



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO E GEOESPACIAL DE *THELAZIA* SPP. EM BOVINOS  
DA REGIÃO DO ALENTEJO, PORTUGAL

Ana Luísa Lopes Brás

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Fernando Jorge Silvano Boinas  
Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho  
Doutor George Thomas Stilwell  
Dr. Nuno Vicente Madeira dos Santos Prates

ORIENTADOR

Dr. Nuno Vicente Madeira dos  
Santos Prates

CO-ORIENTADOR

Doutor George Thomas Stilwell

2012

LISBOA

---





UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO E GEOESPACIAL DE *THELAZIA* SPP. EM BOVINOS  
DA REGIÃO DO ALENTEJO, PORTUGAL

Ana Luísa Lopes Brás

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Fernando Jorge Silvano Boinas  
Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho  
Doutor George Thomas Stilwell  
Dr. Nuno Vicente Madeira dos Santos Prates

ORIENTADOR

Dr. Nuno Vicente Madeira dos  
Santos Prates

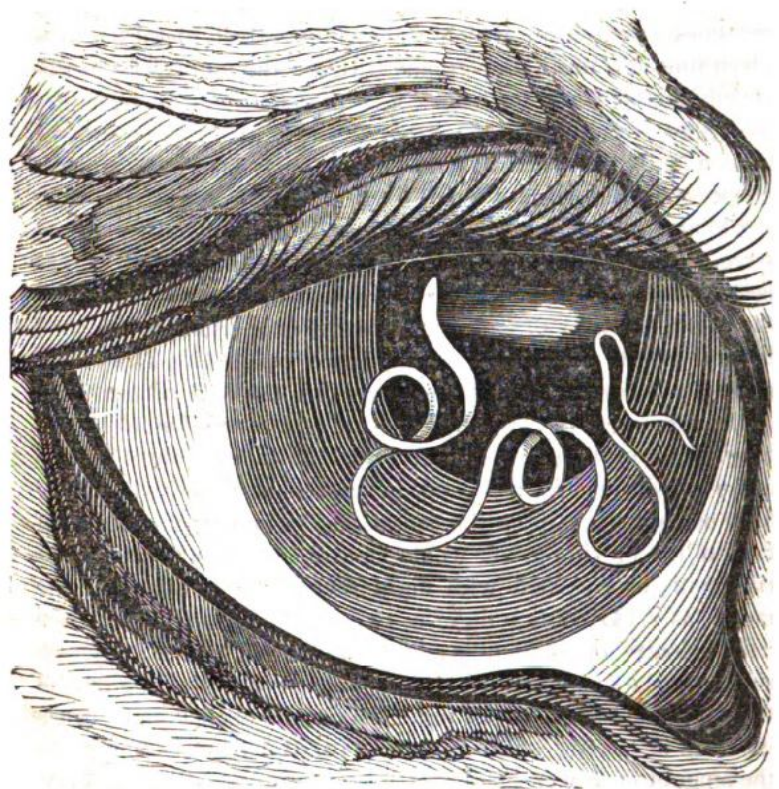
CO-ORIENTADOR

Doutor George Thomas Stilwell

2012

LISBOA

---



“[...] a horse was to be seen which had a living serpent in one of his eyes.”  
(Fonte: The American Journal of Science and Arts, 1840).



## Agradecimentos

Este trabalho não seria possível sem a colaboração de um conjunto de pessoas que pacientemente me auxiliaram e orientaram nesta jornada. Foi para mim um privilégio trabalhar com profissionais de excelência nas mais diversas áreas da Medicina Veterinária, desde os auxiliares e Médicos Veterinários de campo, passando por toda uma equipa de Inspeção Sanitária e terminando nos técnicos e Médicos Veterinários de Parasitologia e Sistemas de Informação Geográfica (SIG). As palavras não serão suficientes para expressar toda a gratitude e amizade que cada uma das pessoas aqui mencionadas inspira em mim, mas farei o meu melhor.

Dito isto, agradeço em primeiro lugar ao Professor Doutor George Stilwell da Faculdade de Medicina Veterinária (FMV) por ter uma porta sempre aberta a dúvidas e problemas que nunca se fechou sem ver os mesmos resolvidos. A sua orientação e conhecimentos foram fundamentais no percurso realizado.

Agradeço ao Dr. Nuno Prates do Hospital Veterinário Muralha de Évora (HVME) por me receber e orientar nesta nova etapa da minha vida que foi o estágio. Por tudo o que me ensinou, todo o apoio e boa disposição, e em especial pela oportunidade de investigar o presente tema sem reservas, abrindo-me portas que de outra maneira teriam permanecido fechadas. O meu muito obrigada!

Agradeço ainda a toda a equipa do HVME, em particular ao Dr. Pedro Dunões e Dr. José Miguel Leal da Costa pela simpatia e conhecimentos partilhados. À Dra. Elsa Celestino que muito me ensinou, pela amizade e brio com que enfrenta o dia-a-dia no campo, com um especial beijinho ao pequeno Sebastião. À Dra. Sónia Germano que muito contribuiu para o “bichinho da curiosidade” que culminou na presente monografia, obrigada! À Dra. Marta Murta pelas capacidades de liderança demonstradas nas Jornadas do HVME e postura em relação à vida que muito me inspirou. À Dra. Cláudia Candeias e Dr. Alexandre Mourato, apesar do pouco tempo que trabalhamos juntos, por demonstrarem uma integridade profissional exemplar que me ensinou como um Médico Veterinário recém-licenciado deve comportar-se. Sem esquecer os auxiliares do HVME, Pedro Bolas, Luís Bandeira e Sónia Viegas, por todas as lições que me deram dentro e fora do campo, saúdo os melhores em tudo! Agradeço à Dra. Mónica Mira, Dr. Tomé Fino e enfermeira Cláudia Ribeiro por possibilitarem o contacto com cavalos e assim enriquecerem os meus conhecimentos nesta área. Não podia deixar de agradecer às minhas colegas de estágio Catarina Santana, Cláudia Ferreira e Liliana Damásio com quem partilhei experiências e vivências.

Agradeço ao Professor Doutor Luís Madeira de Carvalho da FMV pela disponibilidade e incentivo para seguir em frente com este projecto. Pela franqueza e bons conselhos transmitidos um muito obrigada!

Agradeço em especial ao Dr. José Maria Perdigão e Dr. Nuno Fernandes por me receberem de braços abertos no Matadouro Regional de Alto Alentejo SA, Sousel. A boa disposição da equipa de Inspeção Sanitária e simpatia de todo o corpo de trabalho do Matadouro tornou os dias de pesquisa numa gloriosa experiência. Aqui fica o meu obrigada a todos!

Agradeço ao Professor Doutor Helder Cortes e à técnica Maria João Vila Viçosa da Universidade de Évora, duas pessoas que admiro e respeito não só pelas suas competências técnicas como pelo seu humanismo. Muito obrigada pela paciência, dedicação e amizade que nunca esquecerei, mas acima de tudo obrigada por me fazerem ver todo um leque de novas perspectivas que veio enriquecer a minha vida!

Agradeço ao Dr. Telmo Nunes da FMV, o meu modelo como professor e como pessoa. Devolhe tudo o que sei sobre SIG, pois sem a sua orientação, perseverança e amizade nunca teria conseguido. Obrigada por acreditar em mim!

Agradeço ainda às estagiárias Carolina Antunes, Rita Ribeiro e Sara Madeira por todo o apoio, amizade e bons momentos que passamos juntas.

Agradeço a todas as pessoas especiais que tenho o privilégio de chamar amigos. Em particular à Cláudia Ramos, à Lúcia Féteira, à Catarina Machado, à Rita Bento, à Marisa Neves, à Joana Carvalho, à Filipa Mira, à Susana Soares, à Maria Isabel Ferreira e à Sílvia Spínola por todas as aventuras e desventuras que passámos juntas nesta jornada de seis anos. E que venham muitas mais! À Tânia e à Vanessa que tanto me aturaram a falar de coisas estranhas e a tantos outros que não referi, mas são igualmente especiais.

Por último, mas como os últimos são sempre os primeiros, agradeço à minha família.

Ao meu avô, primos e saudosamente a duas pessoas muito queridas que já não estão entre nós, a minha avó Maria do Carmo e a minha tia Maria. Muito obrigada por acreditarem, por me ensinarem e por sempre me apoiarem.

Agradeço aos meus companheiros de longos dias, Max e Óscar!

Enfim agradeço aos meus pais. À minha mãe sempre presente e pronta a rir ou chorar comigo, mas também com uma palavra amiga nos momentos mais difíceis. Ao meu pai que muito me ensinou com o seu exemplo de dignidade e empenho. Um obrigada especial por estarem comigo até ao fim!

## Resumo

A thelaziose é uma parasitose ocular causada por nemátodes do género *Thelazia*, afectando humanos, animais domésticos e silvestres. A transmissão ocorre pela acção de vectores e hospedeiros intermediários da família Muscidae. Nos bovinos as principais espécies de *Thelazia* conhecidas são: *T. rhodesi*, *T. skrjabini* e *T. gulosa*, produzindo sinais clínicos de gravidade variável que podem ser confundidos com outros agentes etiológicos, como a *Moraxella bovis*.

No presente trabalho comprovou-se a presença de *Thelazia* spp. em bovinos da região do Alentejo. A monitorização de *Thelazia* foi realizada entre Novembro de 2011 e Maio de 2012 no Matadouro Regional de Alto Alentejo SA, Sousel. De entre os 571 bovinos examinados 5,1% (n=29) apresentavam nemátodes oculares, maioritariamente da espécie *T. rhodesi*. A prevalência de infecção apresenta características de sazonalidade ( $p<0,001$ ), com o valor máximo em Novembro (18,5%) e decrescendo até Abril e Maio (0,7% e 0,8%, respectivamente). A idade dos animais influencia a ocorrência da parasitose ( $p<0,05$ ), sendo que animais adultos ( $\geq 12$  meses) são mais susceptíveis à infecção. O sexo, a raça e a ocorrência de lesões oculares não foram associados à thelaziose ( $p>0,05$ ). Apenas 4,4% (n=25) dos animais examinados apresentava lesões oculares, as mais observadas foram o lacrimejar, ulceração e opacidade corneal, com um acréscimo significativo de lesões no final do Inverno e Primavera ( $p<0,05$ ).

A distribuição espacial dos animais examinados na região do Alentejo permitiu identificar dois agregados de maior risco relativo (RR) de infecção comparativamente a animais fora destas zonas. Com a aplicação de Sistemas de Informação Geográfica (SIG) os concelhos de Portalegre, Marvão e Castelo de Vide demonstram um  $RR=13$ , ao passo que os concelhos de Santiago do Cacém, Grândola, Alcácer do Sal e parte do concelho de Ferreira do Alentejo apresentam um  $RR=11$ . As áreas arborizadas e de vegetação arbustiva cerrada, tal como terrenos aráveis com pequenos planos de água, edifícios rurais ou explorações e culturas permanentes (pomares, árvores de fruto, vinhas, plantas de baga) favorecem e/ou promovem a ocorrência de *Thelazia* spp. ( $p<0,05$ ). Enquanto, áreas de ambiente seco e quente são factores de protecção contra a parasitose.

A ocorrência de *Thelazia* spp. em Portugal realça a importância dos profissionais de Medicina Veterinária incluírem este agente nos diagnósticos diferenciais de doença ocular em bovinos, especialmente quando são afectados adultos em zonas de vegetação com sombra abundante.

**Palavras-chave:** bovino, Alentejo, parasitose ocular, *Thelazia rhodesi*, SIG, epidemiologia, Portugal





## Abstract

Thelaziosis is an ocular parasitosis caused by nematodes of the genus *Thelazia* in humans, domestic and wild animals. The transmission depends on vectors and intermediate hosts of the Muscidae family. In cattle the main species of *Thelazia* are: *T. rhodesi*, *T. skrjabini* and *T. gulosa*, producing clinical signs of varying severity that can be confused with other infectious agents, such as *Moraxella bovis*.

The present work reveals the presence of *Thelazia* spp. in cattle of the Alentejo's region. *Thelazia* was investigated between November 2011 and May 2012 in Alto Alentejo Regional Abattoir SA, Sousel. Of the 571 cattle examined 5.1% (n = 29) had ocular nematodes, mainly the species *T. rhodesi*. The prevalence of infection shows some seasonality ( $p < 0.001$ ) with the maximum value in November (18.5%), decreasing until April and May (0.7% and 0.8%, respectively). The animals age influences the occurrence of parasitic disease ( $p < 0.05$ ), since adult animals ( $\geq 12$  months) showed higher infection prevalence. Gender, breed and occurrence of ocular lesions were not associated with thelaziosis ( $p > 0.05$ ). Only 4.4% (n=25) of the examined animals showed ocular lesions, the most observed were eye discharge, ulceration and corneal opacity, with a significant increase of lesions in late winter and spring ( $p < 0.05$ ).

The spatial distribution of animals examined in the Alentejo region allowed the identification of two clusters with higher relative risk (RR) of infection compared to animals outside these areas. With the application of Geographic Information Systems (GIS) the municipalities of Portalegre, Castelo de Vide and Marvão showed a RR = 13, while the municipalities of Santiago do Cacém, Grândola, Alcacer do Sal and part of the municipality of Ferreira do Alentejo present RR = 11. Areas of woodland and bushy shrub, as well as agriculture lands with small water bodies, rural or farm buildings and permanent crops (orchards, fruit trees, vines) contribute and/or promote the occurrence of *Thelazia* spp. ( $p < 0.05$ ). Dry and hot areas are protective factors against the parasite.

The occurrence of *Thelazia* spp. in Portugal highlights the importance of including this agent in the differential diagnoses of ocular disease in cattle, especially when adults are affected in zones of vegetation with abundant shade.

**Key-words:** cattle, Alentejo, ocular parasitosis, *Thelazia rhodesi*, GIS, epidemiology, Portugal



# Índice geral

Agradecimentos .....	i
Resumo .....	iii
Abstract .....	iv
Índice geral .....	v
Lista de figuras .....	vii
Lista de gráficos.....	viii
Lista de tabelas .....	ix
Lista de abreviaturas e siglas .....	x
Capítulo 1 – Introdução geral .....	1
1. Descrição das actividades desenvolvidas durante o estágio .....	3
Capítulo 2 – Revisão bibliográfica: Thelaziose.....	6
1. Introdução .....	6
2. A visão dos bovinos – revisão anatómica e funcional .....	7
3. Agente etiológico: <i>Thelazia</i> spp.....	9
3.1 Morfologia geral.....	10
3.2 Espécies de <i>Thelazia</i> .....	11
3.2.1 <i>Thelazia rhodesi</i> .....	14
3.2.2 <i>Thelazia skrjabini</i> .....	15
3.2.3 <i>Thelazia gulosa</i> .....	17
4. Ciclo biológico.....	18
5. Vectores .....	20
6. Epidemiologia .....	22
6.1 Distribuição geográfica.....	22
6.2 Relação entre <i>Thelazia</i> spp. e hospedeiro intermediário .....	25
6.3 Relação entre <i>Thelazia</i> spp. e hospedeiro definitivo .....	28
1. Patogenia, sinais clínicos e lesões.....	32
2. Diagnóstico .....	33
3. Importância económica .....	34
4. Tratamento, profilaxia e controlo.....	34
5. Thelaziose humana.....	36
Capítulo 3 – Estudo epidemiológico de thelaziose bovina na região do Alentejo. ....	38
I - Análise da prevalência e importância clínica de <i>Thelazia</i> spp.....	38
1. Introdução .....	38
2. Material e métodos.....	39
2.1 Recolha de dados.....	39
2.2 Processamento laboratorial dos nemátodes.....	40
2.3 Análise estatística .....	43
3. Resultados.....	43
3.1 Prevalência e intensidade sazonal .....	43
3.2 Prevalência associada a sexo, grupo etário e raça .....	45
3.3 Descrição de lesões oculares.....	46

3.4	Caracterização de <i>Thelazia</i> spp. ....	47
4.	Discussão .....	51
4.1	Prevalência e intensidade sazonal .....	52
4.2	Prevalência associada a sexo, grupo etário e raça .....	54
4.3	Relação entre lesões oculares e thelaziose bovina .....	54
4.4	Diversidade de espécies de <i>Thelazia</i> .....	55
II	Distribuição geográfica e condições geo-climáticas de thelaziose bovina na região do Alentejo. ....	58
1.	Introdução .....	58
2.	Material e métodos .....	60
2.1	Área de estudo .....	60
2.2	Base de dados .....	61
2.3	Análise geoespacial e geo-climática .....	62
2.3.1	Camadas de informação geográfica .....	62
2.3.1.1	Vectorial .....	62
2.3.1.2	Raster .....	63
2.3.2	Sistema de Informação Geográfica .....	64
2.3.2.1	Localização geográfica .....	65
2.3.2.2	Análise de factores de risco geo-climáticos .....	65
2.3.2.3	Análise de agregados espaciais .....	68
2.4	Análise estatística .....	68
3.	Resultados .....	69
3.1	Localização geográfica .....	69
3.2	Análise de agregados espaciais .....	70
3.3	Análise de factores de risco .....	71
3.3.1	Análise preliminar com cálculo de HSe .....	71
3.3.2	Sistema de produção .....	73
3.3.3	Factores geo-climáticos .....	73
4.	Discussão .....	75
4.1	Localização geográfica e agregados espaciais .....	75
4.2	Sistemas de produção .....	76
4.3	Factores de risco geo-climáticos .....	77
	Capítulo 4 – Conclusão .....	80
	Referências bibliográficas .....	82
	Anexos .....	89
1.	Técnica de exame ocular de bovinos no Matadouro de Sousel .....	89
2.	Impressos (modelos de declarações) que constituíram a base de dados .....	90
3.	Descrição de bovinos parasitados por <i>Thelazia</i> spp. ....	93
4.	Bioclim – variáveis bioclimáticas .....	94
5.	Nomenclatura Corine Land Cover: versão Portuguesa comentada (2007) .....	95
243.	Zonas principalmente agrícolas com zonas naturais importantes .....	96
311.	Florestas de folhosas .....	98
312.	Floresta de coníferas .....	99
313.	Florestas mistas de folhosas e coníferas .....	100
322.	Charnecas ou matos .....	102

## Lista de figuras

Figura 1: Área geográfica de actuação do HVME.....	3
Figura 2: O sistema lacrimal.....	7
Figura 3: Visão monocular e binocular do bovino. ....	7
Figura 4: Taxonomia de <i>Thelazia</i> spp.....	10
Figura 5: Morfologia típica do género <i>Thelazia</i> , fêmea e macho.....	11
Figura 6: Características morfológicas de <i>Thelazia rhodesi</i> . ....	14
Figura 7: Características morfológicas de <i>Thelazia skrjabini</i> . ....	16
Figura 8: Características morfológicas de <i>Thelazia gulosa</i> . ....	17
Figura 9: Ciclo de vida de <i>Thelazia</i> spp.....	20
Figura 10: Ciclo biológico do género <i>Musca</i> . ....	21
Figura 11: Distribuição mundial de <i>T. rhodesi</i> , <i>T. skrjabini</i> e <i>T. gulosa</i> em bovinos. ....	23
Figura 12: Distribuição mundial da espécie <i>Musca autumnalis</i> e três subespécies. ....	24
Figura 13: Relação entre o ciclo biológico de mosca ao longo do ano e a ocorrência de infecção por larvas de <i>Thelazia</i> em moscas, num clima temperado. ....	27
Figura 14: Nemátode fêmea do género <i>Thelazia</i> . ....	47
Figura 15: Extremidade anterior de fêmea da espécie <i>Thelazia rhodesi</i> . ....	48
Figura 16: Extremidade posterior de macho <i>T. rhodesi</i> . ....	49
Figura 17: Processo de análise de ocupação de solo com base no raster CLC. ....	67
Figura 18: Localização geográfica dos bovinos examinados no Matadouro de Sousel. ....	69
Figura 19: Distribuição de animais parasitados por concelho da região do Alentejo.....	70
Figura 20: Representação geográfica de agregados de risco relativo superior de <i>Thelazia</i> em bovinos da região do Alentejo. ....	71
Figura 21: Distribuição geográfica das explorações com HSe > 0,85, incluídas na análise....	73
Figura 22: Cabeça de bovino; vista lateral direita, craneal e lateral esquerda. ....	89
Figura 23: Introdução de solução aquosa nos principais ductos da glândula Harderiana do olho Esq.....	89
Figura 24: Introdução de solução aquosa nos principais ductos da glândula Lacrimal do olho Dir. ....	89
Figura 25: Nemátode de <i>Thelazia</i> spp. no olho Esq. de um bovino. ....	89
Figura 26: Rosto do novo modelo do Passaporte de Bovino (já com dados de um bovino)....	90
Figura 27: Verso do novo modelo do Passaporte de Bovino (já com dados) ....	91
Figura 28: Declaração de Deslocações (Mod. 253/DGV) ....	92
Figura 29: Um padrão generalizado da classe 243 – Zonas principalmente agrícolas com zonas naturais importantes. ....	97
Figura 30: Um padrão generalizado da classe 311 – Florestas de folhosas. ....	99
Figura 31: Um padrão generalizado da classe 312 – Floresta de coníferas. ....	100
Figura 32: Um padrão generalizado da classe 313 – Florestas mistas de folhosas e coníferas. ....	101
Figura 33: Um padrão generalizado da classe 322 – Charnecas ou matos. ....	103
Figura 34: Ilustração do gradiente altitudinal.....	103
Figura 35: Um padrão generalizado do caso especial da classe 322 – Charnecas ou matos. ....	104

## Lista de gráficos

Gráfico 1: Prevalência e intensidade mensal de infecção por <i>Thelazia</i> spp.....	44
Gráfico 2: Relação entre o sexo dos bovinos e a prevalência de <i>Thelazia</i> spp. ....	45
Gráfico 3: Distribuição mensal de lesões oculares. ....	47
Gráfico 4: Distribuição ocular dos nemátodes da espécie <i>Thelazia rhodesi</i> recolhidos.....	51
Gráfico 5: Distribuição de valores de Sensibilidade do exame a nível do rebanho relativamente ao número de animais amostrados por exploração. ....	72
Gráfico 6: Prevalência de infecção nos vários sistemas de produção.....	73

## Lista de tabelas

Tabela 1: Casuística de serviços veterinários por exploração.....	4
Tabela 2: Casuística da actividade clínica por animal. ....	4
Tabela 3: Espécies de <i>Thelazia</i> , respectivos hospedeiros e distribuição geográfica. ....	12
Tabela 4: Diferenças morfológicas mensuradas entre <i>Thelazia gulosa</i> , <i>Thelazia rhodesi</i> e <i>Thelazia skrjabini</i> .....	13
Tabela 5: Espécies de <i>Thelazia</i> , vectores e distribuição geográfica. ....	26
Tabela 6: Estudos publicados no âmbito da prevalência de <i>Thelazia</i> spp. em Bovinos (última actualização em 18-08-2012).....	31
Tabela 7: Diagnóstico diferencial entre conjuntivite comum e conjuntivites devidas a <i>Thelazia</i> spp. e <i>Moraxella bovis</i> . ....	34
Tabela 8: Dados individuais de bovinos recolhidos a partir da Declaração de deslocação, Guia de circulação, Passaporte e Ficha de recepção de bovinos. ....	40
Tabela 9: Descrição de grupos etários. ....	40
Tabela 10: Factores de calibração.....	41
Tabela 11: Descrição de características morfológicas mensuradas. ....	42
Tabela 12: Prevalência mensal de <i>Thelazia</i> spp. e intensidade de infecção em bovinos do Matadouro de Sousel (Novembro de 2011 a Maio de 2012). ....	44
Tabela 13: Número e proporção de bovinos positivos a <i>Thelazia</i> agrupados de acordo com o sexo, grupo etário e raça.....	46
Tabela 14: Relação entre presença de <i>Thelazia</i> spp. e lesões oculares em bovinos. ....	46
Tabela 15: Mensurações de características morfológicas da espécie <i>Thelazia rhodesi</i> .....	48
Tabela 16: Mensurações de características morfológicas de nemátodes de espécie indeterminada. ....	49
Tabela 17: Comparação de características morfológicas entre <i>T. rhodesi</i> e indivíduos de espécie indeterminada.....	50
Tabela 18: Sistema de Referência de Coordenadas original das camadas de informação geográfica utilizadas na análise. ....	64
Tabela 19: Caracterização dos agregados espaciais.....	71
Tabela 20: Distribuição por distrito das explorações com HSe>0,85, incluídas na análise.....	72
Tabela 21: Descrição sintética de factores de risco geo-climáticos significativos.....	74
Tabela 22: Descrição de bovinos parasitados por <i>Thelazia</i> spp. observados no Matadouro Regional de Sousel (Novembro de 2011 a Maio de 2012).....	93



## Lista de abreviaturas e siglas

<b>ACORE</b>	ADS de gado ovino, bovino e caprino da região de Estremoz
<b>ACORPSOR</b>	Associação de Criadores de ovinos da região de Ponte de Sôr
<b>ACOS</b>	Associação de Criadores de Ovinos do Sul
<b>AP</b>	Prevalência Aparente
<b>CAOP</b>	Carta Administrativa Oficial de Portugal
<b>CLC</b>	Corine Land Cover
<b>COPRAPEC</b>	Cooperativa Agrícola de Montemor-o-Novo
<b>DSVRALT</b>	Direcção de Serviços de Veterinária da Região do Alentejo
<b>FMV</b>	Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa
<b>GRASS</b>	Geographic Resources Analysis Support System
<b>HD</b>	Hospedeiro Definitivo
<b>HI</b>	Hospedeiro Intermédio
<b>HSe</b>	Sensibilidade de Rebanho
<b>HSp</b>	Especificidade de Rebanho
<b>HVME</b>	Hospital Veterinário Muralha de Évora
<b>IC</b>	Intervalo de Confiança
<b>IGP</b>	Instituto Geográfico Português
<b>IM</b>	Intra-muscular
<b>INE</b>	Instituto Nacional de Estatística
<b>ME</b>	Microscopia Electrónica
<b><i>n</i></b>	Número de animais amostrados
<b>PI</b>	Pós Infecção
<b>QGIS</b>	Quantum GIS
<b>RR</b>	Risco Relativo
<b>SC</b>	Subcutâneo
<b>Se</b>	Sensibilidade
<b>SIG</b>	Sistema de Informação Geográfica
<b>SNIRA</b>	Sistema Nacional de Informação e Registo Animal
<b>Sp</b>	Especificidade
<b>SRC</b>	Sistema de Referência de Coordenadas

## Capítulo 1 – Introdução geral

O justificativo para a presente dissertação no contexto específico da thelaziose bovina prende-se com um culminar de experiências vividas ao longo do estágio curricular. Desde há muitos anos que a cidade de Évora e suas paisagens de calmos animais a pastorear consagraram a vontade de vir a aprender ou praticar aqui a actividade clínica na área de Grandes Animais. O sonho foi concretizado durante o estágio e foi neste contexto que surgiu o primeiro contacto com este ser irrequieto, o nemátode *Thelazia* spp., inconspicuamente escondido no olho de uma vaca.

Aconteceu no dia 8 de Setembro de 2011, não muito longe da cidade de Évora, enquanto era averiguada a ausência de reflexo corneal, pela autora e pela Dra. Sónia Germano, numa vaca de 16 anos recém-falecida. O bichinho da curiosidade acordou, intrigado com aquele pequeno filamento esbranquiçado que mais parecia uma serpente a mexer-se no olho da vaca, o qual, após observação microscópica, foi identificado como um parasita do género *Thelazia*.

A pesquisa de informação sobre este parasita revelou pouca informação e na sua maioria pouco contemporânea, contudo qual não foi o espanto da autora quando não encontrou relatos do parasita em Portugal.

E as perguntas surgiram! Será que o parasita não existia em Portugal? Pouco provável, pois toda a informação apontava para que o parasita fosse cosmopolita. Ou talvez o vector de *Thelazia* só tenha surgido agora com as alterações climáticas que temos sofrido? Mais uma vez pouco provável, o vector pode ser uma das moscas que comumente tormenta a face dos animais. Será então que nunca ninguém tinha reparado no parasita em olhos de bovinos? Como poderia isto ser verdade, a mesma descoberta casual supracitada deveria ter acontecido numerosas vezes no passado com outros clínicos.

Mais tarde em conversa com sábios estudiosos e praticantes de clínica de bovinos vim a saber a resposta. O que não faltava era “avistamentos” de *Thelazia* spp. no passado, contudo a sua presença não foi documentada oficialmente na altura. Inclusive o parasita foi observado e confirmado laboratorialmente pelo Prof. Doutor George Stilwell, da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa (FMV), na zona centro (Coimbra) em bezerros oriundos do Alentejo há cerca de 20 anos atrás.

Satisfeitas estas perguntas, surgiram outras! Afinal *Thelazia* spp. existe em Portugal, mas continuava sem saber qual a sua prevalência. Nem até que ponto seria responsável pelos casos de queratoconjuntivite que se observam e são em geral empiricamente diagnosticados como consequência do agente *Moraxella bovis*. A possibilidade de realizar o estudo no Matadouro Regional de Alto Alentejo SA, Sousel, reforçou o interesse e motivação necessários para a

caracterização desta parasitose. Pois apesar da associação entre thelaziose e sinais clínicos de queratoconjuntivite ser ainda ambígua, é minha convicção que os profissionais de Medicina Veterinária devem encontrar-se alertados para o estatuto do nemátode *Thelazia* spp. no nosso país.

A presente monografia relata a ocorrência de *Thelazia* spp. em bovinos no Alentejo, analisa a sua epidemiologia e características morfológicas, e apura os diferentes factores de risco patentes na infecção. O trabalho foi organizada em quatro capítulos distintos:

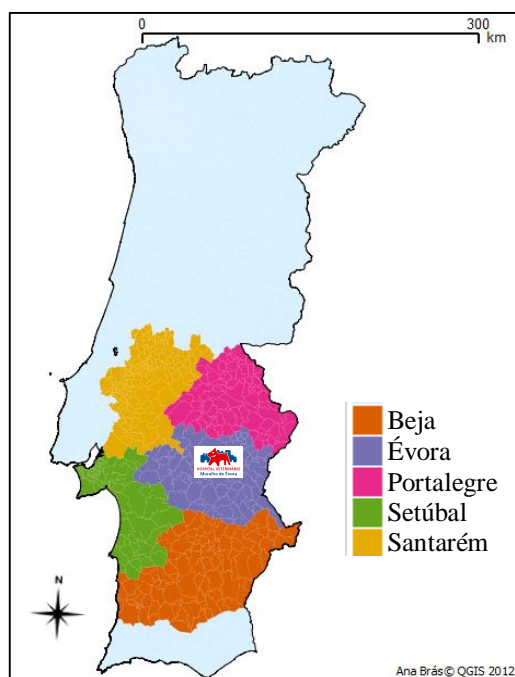
- O primeiro capítulo narra com um teor introdutório a temática desenvolvida, sendo ainda resumidas as actividades desenvolvidas durante o estágio;
- O segundo capítulo refere o enquadramento teórico no âmbito da thelaziose;
- O terceiro capítulo apresenta e descreve o estudo epidemiológico efectuado na região do Alentejo, com consequente discussão dos resultados obtidos;
- O quarto capítulo sintetiza as reflexões realizadas ao longo do trabalho e apresenta as conclusões alcançadas.

## 1. Descrição das actividades desenvolvidas durante o estágio

“O Estágio tem por objectivo proporcionar aprendizagem, treino e aprofundamento dos conhecimentos numa área específica das Ciências Veterinárias.”

Regulamento do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, FMV – UTL (2012)

Encontram-se patentes na frase supracitada os pontos-chave da realização do estágio curricular que veio a culminar na edição desta monografia. A área específica das Ciências Veterinárias escolhida foi Sanidade e Clínica de Grandes Animais, onde se incluem Bovinos, Equinos, Pequenos Ruminantes e Suínos. A “aprendizagem, treino e aprofundamento dos conhecimentos” teve lugar no Hospital Veterinário Muralha de Évora (HVME), onde decorreu o estágio curricular iniciado a 1 de Setembro de 2011 e concluído a 1 de Junho de 2012. Neste período foram acompanhados os serviços prestados pelo Departamento de Animais de Produção, sob a orientação do Dr. Nuno Vicente Prates, na área de clínica de espécies pecuárias e sanidade animal, em particular. O HVME presta assistência clínica a explorações pertencentes a cinco Distritos, nomeadamente, Santarém, Setúbal, Portalegre, Évora e Beja (Fig. 1). Dentro do referido raio de acção são ainda prestados serviços específicos de suma importância na manutenção de uma actividade pecuária saudável e sustentável, em particular na área de reprodução, apoio ao produtor e profilaxia médica. O dinamismo do HVME permitiu a aprendizagem e participação em actividades de diferentes áreas, designadamente em inspecção de montarias de caça maior e clínica de animais de companhia, de equinos e de animais silvestres e de zoo.



**Figura 1: Área geográfica de actuação do HVME.**

No contexto da sanidade animal, o HVME trabalha com seis das onze Associações de Defesa Sanitária/Organizações de Produtores Pecuários (ADS/OPP) pertencentes à DSVRALT, a enumerar: a COPRAPEC, a ACOS, a ACORE, a ACORPSOR, o ADS de Mourão e Reguengos de Monsaraz, e o ADS de Coruche e Salvaterra de Magos.

A casuística observada durante o período de estágio é apresentada seguidamente de forma resumida (ver Tabela 1 e 2).

**Tabela 1: Casuística de serviços veterinários por exploração.**

Serviços (por exploração)		Nº de casos observados	Freq. Relativa (%)
<b>Saneamento</b>			
	Bovinos	33	18,44%
	Pequenos Ruminantes	22	12,29%
<b>Profilaxia</b>			
	Bovinos	23	12,85%
	Pequenos Ruminantes	16	8,94%
	Suínos	3	1,68%
<b>Teste pré-movimentação</b>		39	21,79%
<b>Identificação electrónica</b>			
	Pequenos Ruminantes	6	3,35%
	Bovinos	2	1,12%
<b>Reprodução e obstetrícia</b>			
	Diagnóstico de gestação	11	6,15%
	Exame andrológico	10	5,59%
	Sincronização de cios	6	3,35%
	Inseminação artificial	5	2,79%
<b>Inspecção de Montaria</b>		3	1,68%
<b>Total</b>		179	100,00%

**Tabela 2: Casuística da actividade clínica por animal.**

Consultas (por animal)		Nº de casos observados	Freq. Relativa (%)
<b>Bovinos</b>			
<b>Geral</b>	Abcesso / feridas	6	1,93%
	Outros	33	10,61%
<b>Aparelho Gastrointestinal</b>	Diarreia	26	8,36%
	Timpanismo	13	4,18%
	Reticulo peritonite traumática	1	0,32%
	Outros	2	0,64%

**Tabela 2: (continuação)**

<b>Aparelho Respiratório</b>		23	7,40%
<b>Aparelho Músculo-esquelético e locomotor</b>	Claudicação	16	5,14%
	Corte de unhas	3	0,96%
<b>Aparelho reprodutor</b>	Parto	21	6,75%
	Retenção placentária	8	2,57%
	Prolapso vaginal / uterino	7	2,25%
	Cesareana	6	1,93%
	Piômetra / endometrite	4	1,29%
	Quistos ováricos	2	0,64%
	Aborto	1	0,32%
	Outros	9	2,89%
<b>Métodos Complementares de Diagnóstico</b>	Esfregaços sanguíneos	5	1,61%
	Coprologia	4	1,29%
	Hemograma + bioquímicas	2	0,64%
	Raio-X	1	0,32%
<b>Doenças infecciosas</b>	Mamite	5	1,61%
	Actinobacilose	1	0,32%
	BVDV	1	0,32%
<b>Doenças Parasitárias</b>	Piroplasmose	6	1,93%
	Míases	5	1,61%
<b>Oftalmologia</b>		16	5,14%
<b>Toxicologia</b>		1	0,32%
<b>Necrópsia</b>		13	4,18%
<b>Pequenos ruminantes</b>			
<b>Geral</b>	Fotossensibilidade	1	0,32%
	Outros	4	1,29%
<b>Aparelho reprodutor</b>	Parto distócico	2	0,64%
	Aborto	2	0,64%
<b>Toxicologia</b>		1	0,32%
<b>Necrópsia</b>		4	1,29%
<b>Equinos</b>			
<b>Geral</b>		7	2,25%
<b>Aparelho Gastrointestinal</b>		6	1,93%
<b>Aparelho Respiratório</b>		1	0,32%
<b>Internamento</b>		1	0,32%
<b>Animais Silvestres ou Selvagens</b>			
<b>Geral</b>		12	3,86%
<b>Necrópsia</b>		3	0,96%
<b>Captura</b>		2	0,64%
<b>Suínos</b>		1	0,32%
<b>Animais de Companhia</b>		23	7,40%
<b>Total</b>		311	100,00%

## Capítulo 2 – Revisão bibliográfica: Thelaziose

### 1. Introdução

A thelaziose é uma afecção parasitária ocular, devida à acção patogénica de um nemátode: *Thelazia* spp.. Os nemátodes pertencentes ao género *Thelazia* (Spirurida, Thelaziidae) integram um grupo de parasitas oculares cosmopolitas responsáveis por infecções em humanos, animais domésticos e silvestres. Esta parasitose, transmitida por vectores invertebrados, pode causar sinais clínicos de gravidade variável, desde assintomática a úlceras e opacidade corneal (Kennedy e Moraiko, 1987).

O género *Thelazia* integra 16 espécies conhecidas, caracterizadas por uma grande especificidade para o Hospedeiro Definitivo (HD), sendo o ciclo de vida considerado muito semelhante entre elas (Otranto e Traversa, 2005). Contudo, é sugerido que mais de uma espécie de *Musca* (Diptera, Muscidae) está envolvida na transmissão destes parasitas (Klesov, 1950; Geden e Stoffolano, 1982; Giangaspero *et al.*, 2004). A distribuição do género *Thelazia* tem sido alvo de diversos estudos na América do Norte, Europa e Ásia; todavia muito permanece por conhecer no âmbito do ciclo de vida e da epidemiologia deste nemátode (Kennedy *et al.*, 1990; Aken *et al.*, 1996; Tweedle *et al.*, 2005).

A thelaziose bovina é causada pelas espécies *Thelazia rhodesi* Desmarest, 1822, *Thelazia skrjabini* Erschow, 1928, e *Thelazia gulosa* Railliet e Henry, 1910. As duas últimas espécies citadas encontram-se maioritariamente documentadas na América (O'Hara e Kennedy, 1991; Kennedy e MacKinnon, 1994) e recentemente no Sul de Itália (Giangaspero *et al.*, 2000) e Reino Unido (Tweedle *et al.*, 2005). Enquanto a *T. rhodesi* é particularmente comum no Velho Mundo: Itália, França, Bulgária e Hungria (Anderson, 2000).

A importância destas três espécies prende-se com os seus efeitos económicos, muitas vezes indirectos, demonstrados num desconforto e diminuição de aptidão visual dos bovinos. A presença do nemátode no olho só por si será razão de desconforto, contudo a sua tendência para provocar um lacrimejar excessivo vai atrair à face do animal insectos dípteros incómodos e possíveis vectores de agentes patogénicos. A diminuição da aptidão visual prende-se com as lesões provocadas pelo nemátode, especialmente para a espécie *T. rhodesi* cuja cutícula é deveras agressiva levando a irritação e inflamação dos tecidos oculares (Aken *et al.*, 1996). Os casos de infecção por *Thelazia* spp. em bovinos que têm sido descritos (Salifu *et al.*, 1990; Miller *et al.*, 1992; Deepthi *et al.*, 2012 ) esclarecem bem as lesões que podem ser produzidas, desde conjuntivite, opacidade corneal, quistos subconjuntivais, lacrimejar excessivo, descargas nasais e cegueira. No entanto, outros autores (Geden e Stoffolano, 1980; Ghirotti e Iliamupu, 1989) atestam a presença de *Thelazia* spp. sem suscitar quaisquer lesões, demonstrando uma ambiguidade de resultados que deixa espaço para novas hipóteses e

estudos.

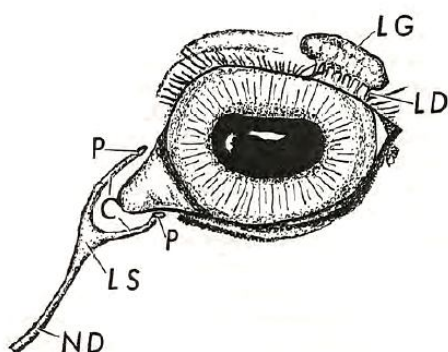
Na Europa ainda são poucos os dados concretos relativos à prevalência de infecção por *Thelazia* spp. em bovinos, apesar de ser reconhecida como uma parasitose cosmopolita. A thelaziose bovina está descrita em Itália e Inglaterra (Giangaspero *et al.*, 2000; Tweedle *et al.*, 2005) com uma prevalência que varia entre 7,2% e 1,5%, respectivamente.

Até à actualidade não existem elementos disponíveis relativamente à thelaziose bovina em Portugal, apesar de ter sido publicada recentemente por Vieira *et al.* (2012) informações que confirmam a existência de thelaziose canina no Norte do país. Contudo, a parasitose já foi documentada no país vizinho em bovinos, pelo professor Jordano (1945) que descreve um caso em Lora del Rio, Sevilha, Espanha.

A presente monografia foca alguns aspectos gerais da thelaziose ocular. Fornecendo informação actualizada sobre a epidemiologia e aspectos clínicos da parasitose, com especial atenção para a thelaziose bovina. Com este trabalho a autora procura elevar a consciência de risco real desta parasitose entre a comunidade científica e a necessidade de incluir a *Thelazia* spp. no diagnóstico diferencial de doenças oculares em bovinos.

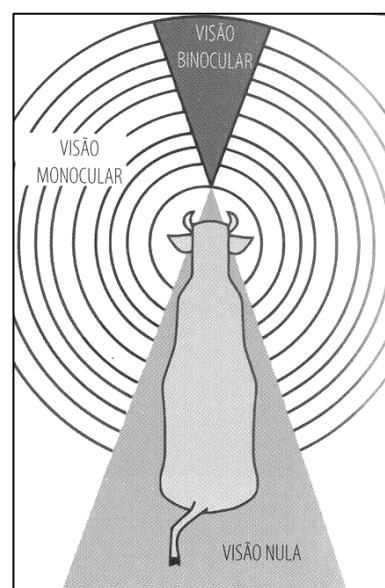
## 2. A visão dos bovinos – revisão anatômica e funcional

O órgão da visão é formado pelo globo ocular e estruturas acessórias, que incluem: as pálpebras, a conjuntiva, o aparelho lacrimal e muscular. O globo ocular encontra-se alojado na órbita, a qual nos bovinos é completamente circundada por osso. Nos bovinos o globo ocular destaca-se além do limite orbitário, pelo que, com o auxílio de movimentos oculares, um bovino tem um campo visual de aproximadamente 360 graus (Getty, 1986; Gloobe, 1989). Daqui advém a importância do sistema visual como modalidade sensorial imprescindível na percepção do ambiente em redor (Fig. 3).



**Figura 2: O sistema lacrimal.**

C – Canais lacrimais; LD – Ductos Lacrimais;  
LG – Glândula Lacrimal; LS – Saco Lacrimal;  
ND – Ducto Nasolacrimal. (Adaptado de Gelatt, 2007).



**Figura 3: Visão monocular e binocular do bovino.**  
(Fonte: Associação de Criadores Limousine, 2011).



A patologia oftalmológica veterinária apresenta uma grande variedade de afecções oculares, sendo que o exame da conjuntiva apresenta elevada importância prática. A mucosa conjuntival é muito sensível e responde a diversas influências externas e internas de forma perceptível. A conjuntiva é uma estrutura contínua, todavia para facilitar a sua descrição é dividida em conjuntiva palpebral e bulbar. A conjuntiva palpebral recobre a face interna das pálpebras podendo ser pigmentada próximo à margem da pálpebra. A conjuntiva bulbar é contínua ao epitélio corneal sobre o globo ocular, iniciando-se na união corneoesclerética ou limbo, junto a esta zona a conjuntiva pode apresentar pigmentação. A junção entre a conjuntiva palpebral e bulbar ocorre no fórnix. Por conseguinte, quando o olho está encerrado a córnea e a mucosa conjuntival formam uma cavidade, denominada saco conjuntival (Gloobe, 1989; Gelatt, 2007).

No ângulo medial do olho forma-se uma prega da mucosa conjuntival que recobre a membrana nictitante. Esta movimenta-se sobre a córnea em direcção dorsolateral e contém uma cartilagem em forma de T cuja parte transversa é paralela à margem livre da membrana, normalmente pigmentada. Circundando o eixo da cartilagem encontra-se tecido glandular disposto numa parte achatada e outra arredondada, que em conjunto forma a glândula da membrana nictitante ou glândula Harderiana. O tecido glandular secreta fluído lacrimal semelhante à glândula lacrimal, através de dois a três ductos que se abrem na face bulbar da membrana nictitante (Getty, 1986; Gelatt, 2007).

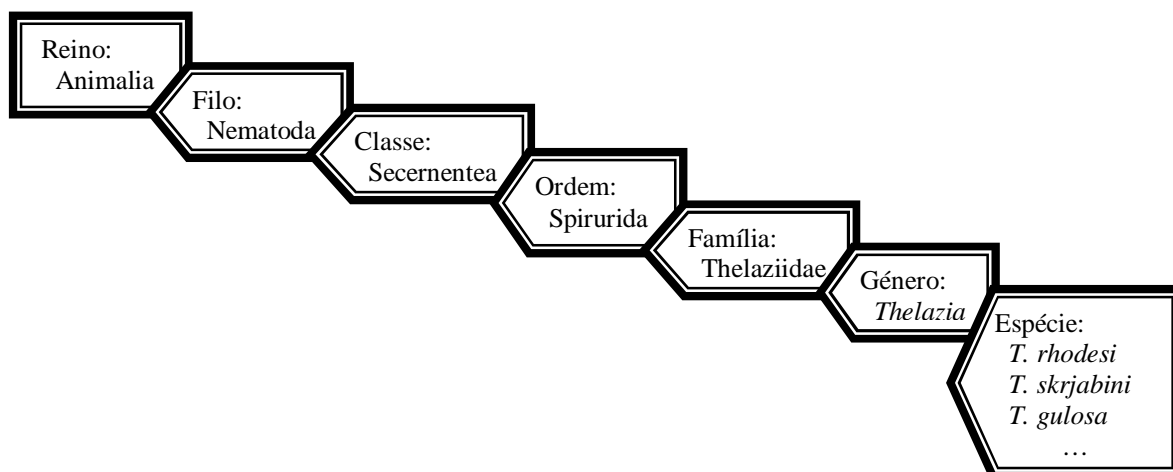
A glândula lacrimal é a principal glândula secretora ocular (Fig. 2), encontrando-se numa posição dorsolateral da órbita, em geral rodeada por gordura. Medindo entre 6 e 7 cm de comprimento, 1 cm de espessura e 3,5 cm de largura, encontra-se comprimida entre a parede orbitária e o globo ocular. Com uma aparência lobulada a glândula excreta secreções lacrimais, através de seis a oito ductos maiores e vários ductos menores, na proximidade do fórnix conjuntival da pálpebra superior. O fluido lacrimal é recolhido próximo à carúncula lacrimal, no ângulo medial do olho, através dos canais lacrimais. Trata-se de estruturas com 1 a 1,5 cm de comprimento que confluem no saco lacrimal, o qual pode medir entre 5 a 8 mm de diâmetro. Segue-se o ducto nasolacrimal num percurso recto de 12 a 15 cm de comprimento, abrindo-se na parede lateral da narina (Getty, 1986).

### 3. Agente etiológico: *Thelazia* spp.

A primeira descrição de nemátodes oculares consistente com o género *Thelazia* foi realizada por Johannes Rhodes, em 1676, o qual observou o parasita sobre a córnea de um bovino (*Bos taurus*). Em 1819, Bosc criou o género *Thelazius*, aludindo a estes mesmos nemátodes que veio a referir como “*Thelazia de Rhodes*” (Dictionnaire des Sciences Naturelles, 1828). Desde então, têm vindo a ser relatadas várias espécies de *Thelazia* em mamíferos e aves de diferentes partes do mundo.

Curiosamente, vários autores contemporâneos de Bosc (Chaignaud, 1828; Lee, 1840) demonstraram uma propensão para considerar que parasitas oculares, independentemente da sua localização no olho, pertenciam à mesma classe taxonómica. Sugerindo que nemátodes intra-oculares de morfologia semelhante, encontrados na câmara anterior, estariam apenas *en route* para a superfície ocular, vindo a perfurar as túnicas do globo ocular e tomando residência sob as pálpebras. É deveras curioso verificar o quanto a ciência evoluiu. Constatamos que nessa época começava a ser posta de parte a teoria da geração espontânea, para considerar a hipótese de existir reprodução dos parasitas, cujos ovos migrariam ao longo da circulação sanguínea em busca das condições ideais ao seu desenvolvimento, sem nunca deixar o hospedeiro (Lee, 1840). A demonstração do ciclo biológico da *Thelazia* spp., em 1949 (por Klesov e Krastin, citados por Anderson, 2000, p. 404), comprovando a existência de um Hospedeiro Intermediário (HI) da família Muscidae, veio esclarecer a natureza da sua transmissão e como os animais podem ser infectados por formas larvares durante a alimentação de moscas nas secreções lacrimais.

O género *Thelazia* é um endoparasita da órbita ocular, localizando-se no saco conjuntival, sob a membrana nictitante, e nas glândulas e ductos lacrimais de mamíferos e aves. Todavia tem a particularidade, como Otranto e Traversa (2005) referem, de se encontrar exposto ao ar e ambiente externo como um qualquer ectoparasita. Aliás o olho de bovinos parece um órgão pouco indicado como habitat de parasitas, comparativamente ao intestino. No entanto, a *Thelazia* spp. adaptou-se ao meio lacrimal, aí residindo com grande sucesso, chegando mesmo cada espécie de *Thelazia* a desenvolver uma predilecção para diferentes áreas do olho (Kennedy e MacKinnon, 1994). O nemátode desenvolveu mecanismos de protecção contra os factores de defesa lacrimais, como as lisozimas, o complemento e as imunoglobulinas. Tirando assim partido do fornecimento de nutrientes à córnea avascular pela lágrima, a qual contém concentrações de electrólitos e glucose semelhantes ao plasma (Gelatt, 2007).



**Figura 4: Taxonomia de *Thelazia* spp.**

(Adaptado de Global Biodiversity Information Facility, 2011).

O parasita *Thelazia* pertence à ordem Spirurida, e mais precisamente à família Thelaziidae (Fig. 4), cuja caracterização inclui uma cutícula com estriações transversas em ambos os sexos, por vezes, bem marcadas no extremo anterior. A profundidade e sobreposição das arestas cuticulares auxiliam a fixação e deslocação do parasita ao longo da superfície corneal lisa do hospedeiro (Roberts e Janovy, 2009).

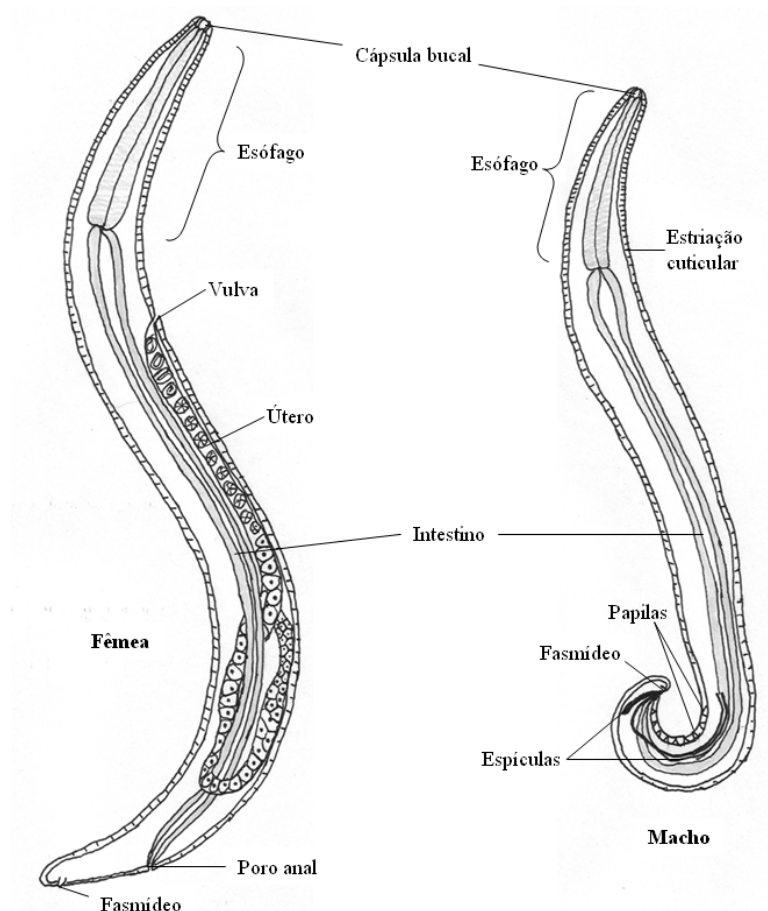
### 3.1 Morfologia geral

A descrição realizada por Bosc (1819) e por F. Hopkinson (citado por Lee, 1840, p. 287) define em linhas gerais os nemátodes do género *Thelazia*. Os nemátodes adultos são pequenos com aproximadamente um centímetro de comprimento, forma filiforme, afilando em ambas as extremidades e coloração branco-leitoso ligeiramente transparente.

A região cefálica é semelhante entre ambos sexos deste género (Fig. 5). Os nemátodes do género *Thelazia* apresentam uma boca desprovida de lábios e uma cápsula bucal bem desenvolvida com paredes grossas (Roberts e Janovy, 2009). A extremidade anterior apresenta ainda duas papilas cervicais laterais, simples e de forma semelhante, uma de cada lado do parasita. As papilas cervicais são normalmente muito pequenas e inconspícuas, podendo levar a conclusões erróneas, nomeadamente que se encontram ausentes em algumas espécies de nemátodes. Tendo em conta a sua estrutura e posição é provável que estas tenham uma função mecanoreceptora, permitindo ao nemátode determinar se consegue passar através de espaços estreitos. A extremidade posterior de ambos sexos é romba, apresentando dois fasmídeos em forma de mamilo. Os fasmídeos estão envolvidos na avaliação da intensidade de um dado estímulo, permitindo ao nemátode manter-se num ambiente apropriado (Naem, 2007b).

Na fêmea, a vulva encontra-se localizada na extremidade anterior do corpo, na região esofágica; enquanto o poro anal está presente na extremidade posterior. O útero dirige-se caudalmente, contendo ovos por vezes embrionados (Gorgot, 1947).

Nos machos a cauda é curvada ventralmente, sem asas caudais nem gubernáculo, apresentando espículas desiguais, e papilas pré-anais e pós-anais. Autores defendem que as papilas caudais têm funções quimiorreceptoras e mecanorreceptoras. O número de papilas anais, particularmente as papilas pré-anais, apresentam importância taxonômica, uma vez que o número de papilas varia consoante as espécies do género *Thelazia* (Gupta e Kalia, 1978; Naem, 2007b).



**Figura 5: Morfologia típica do género *Thelazia*, fêmea e macho.**  
Desenhado por Ana Brás.

### 3.2 Espécies de *Thelazia*

Uma vez contemplada a caracterização geral do nemátode será proveitoso ponderar o género *Thelazia* e em especial as espécies que o integram. De acordo com Otranto e Traversa (2005), actualmente são conhecidas dezasseis espécies de *Thelazia* (ver Tabela 3), as quais são tendencialmente especializadas para um hospedeiro definitivo. Destas, seis são bastante comuns (*T. rhodesi*, *T. gulosa*, *T. skrjabini*, *T. lacrymalis*, *T. callipaeda* e *T. californiensis*) e causam dilemas Veterinários ou Médicos em várias partes do mundo. Quanto às restantes dez espécies a informação relativa à sua morfologia, biologia e epidemiologia é ainda escassa.

**Tabela 3: Espécies de *Thelazia*, respectivos hospedeiros e distribuição geográfica.**  
(Adaptado de Otranto e Traversa, 2005).

Espécie	Hospedeiro definitivo	Distribuição geográfica
<i>Thelazia brevispiculata</i>	Bovinos	China
<i>Thelazia bubalis</i>	Búfalos	Índia
<i>Thelazia californiensis</i>	Canídeos, felídeos, ruminantes domésticos e selvagens, Humanos	América do Norte
<i>Thelazia callipaeda</i>	Canídeos, felídeos, roedores, Humanos	Itália, ex-URSS, países orientais
<i>Thelazia depressa</i>	Mustelídeos	África
<i>Thelazia erschowi</i>	Suínos	Ex-URSS
<i>Thelazia ferulata</i>	Bovinos	China
<i>Thelazia gulosa</i>	Ruminantes domésticos e selvagens	Europa, Ásia, América do Norte, Austrália
<i>Thelazia hsüi</i>	Bovinos	China
<i>Thelazia iheringi</i>	Agoutis	América do Sul
<i>Thelazia kansuensis</i>	Bovinos	China
<i>Thelazia lacrymalis</i>	Equídeos, ruminantes domésticos e selvagens	Europa, América do Norte e Sul
<i>Thelazia leesei</i>	Camelídeos	Ex-URSS, Índia
<i>Thelazia petrowi</i>	Bovinos	Ex-URSS
<i>Thelazia rhodesi</i>	Ruminantes domésticos e selvagens, equídeos	Europa, Ásia, África, América do Norte e Sul
<i>Thelazia skrjabini</i>	Ruminantes domésticos e selvagens	Europa, Ásia, América do Norte, Austrália.

A thelaziose bovina é, na sua maioria, associada a três espécies, *T. rhodesi*, *T. gulosa* e *T. skrjabini*. Contudo existem exceções, como é descrito por Moolenbeek e Surgeoner (1980), que relatam a presença de *Thelazia lacrymalis* em bovinos, apesar de esta espécie parasitar primariamente equinos (*Equus caballus*).

Vários autores referem a ocorrência de infecções mistas em bovinos com diversas espécies de *Thelazia* em simultâneo, mostrando-se necessário o seu reconhecimento individual (Arbuckle e Khalil, 1978; Kennedy e MacKinnon, 1994). As espécies são distinguidas não apenas pelo HD e/ou HI, mas sim pelas diferenças morfológicas que apresentam, tais como o aspecto da abertura vulvar, as características das estriações cuticulares transversas e o número de papilas caudais do macho (ver Tabela 4).

**Tabela 4: Diferenças morfológicas mensuradas entre *Thelazia gulosa*, *Thelazia rhodesi* e *Thelazia skrjabini*.**

Características (µm)	<i>T. gulosa</i>			<i>T. rhodesi</i>			<i>T. skrjabini</i>		
	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	
Largura da abertura bucal		33 - 47			10 - 14,5			11 - 13,5	
Papilas cervicais		NM			350 - 384			NM	
Banda de estriação anterior		Não			15			Não	
Banda de estriação média		Não			20			Não	
Banda de estriação posterior		Não			30			Não	
Dois fasmídeos		Sim			Sim			Sim	
Comprimento (mm)		11 - 16			12,5 - 20,5			11 - 19	
Largura	5 - 9	350 - 460	7,5 - 14,5		300 - 500		5 - 9	178 - 378	
Comprimento do esôfago	300 - 370	300 - 320	320 - 475		624 - 704		178 - 260	NM	
Vulva	NM	328 - 648	592 - 672		505,2 - 536,3		-	410 - 710	
Poros anal	-	70 - 120	-		80 - 84		-	65 - 90	
Espícula menor	120 - 125	-	100 - 130		-		82 - 125	-	
Espícula maior	608 - 1025	-	624 - 850		-		112 - 185	-	
Pares papilas pré-anais	35 - 40 papilas ímpares	-	14		-		31 - 38 papilas ímpares	-	
Pares papilas pós-anais	3	-	1		-		2	-	

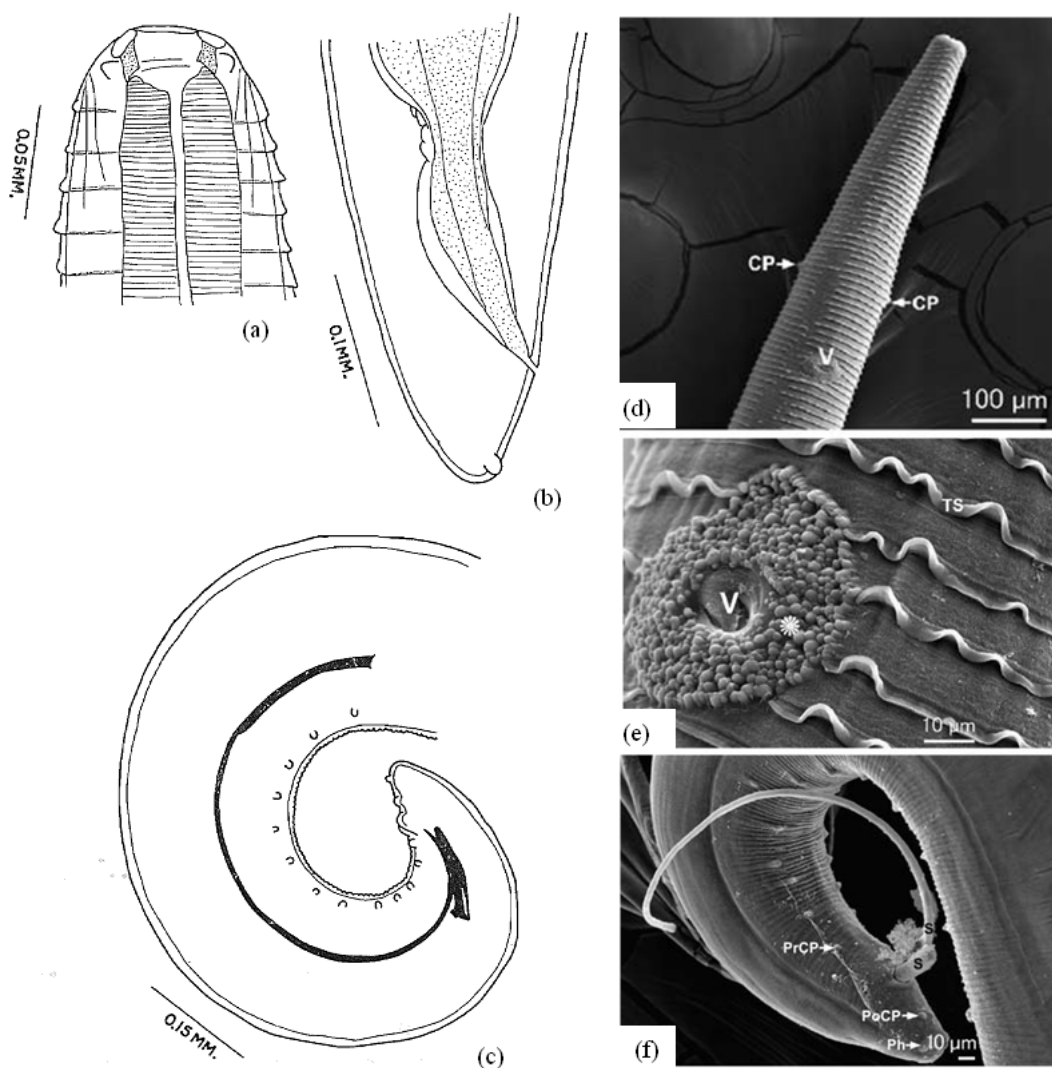
NM = Não Mensurado

\*) Valores obtidos por Gupta e Kalia (1978).

Fonte: Adaptado de Naem (2007a, b e c), complementado com observações de Gorgot (1947) e Gupta e Kalia (1978).

### 3.2.1 *Thelazia rhodesi*

Alguns autores (Euzéby, 1961; Munang'andu *et al.*, 2011) referem que a *T. rhodesi* se encontra predominantemente na superfície do globo ocular, “escondendo-se sob a terceira membrana e as pálpebras” (Jordano, 1945, p. 28). Esta espécie parasita bovinos (*Bos taurus*), búfalos (*Bubalus bubalis*), búfalos Africanos (*Syncerus caffer*), zebus (*Bos indicus*), bisontes (*Bison bonasus*) e, menos comumente, equinos (*Equus caballus*), ovelhas (*Ovis aries*) e cabras (*Capra hircus*) (Anderson, 2000; Munang'andu *et al.*, 2011).



**Figura 6: Características morfológicas de *Thelazia rhodesi*.**

(Adaptado de Gupta e Kalia, 1978; Naem, 2007c).

- (a) região anterior;
- (b) região posterior de fêmea;
- (c) região posterior de macho;
- (d) e (e) região anterior de fêmea em ME mostrando papilas cervicais (CP), vulva (V), padrão cuticular em redor da vulva (\*) e estriação transversa da cutícula (TS);
- (f) região posterior de macho em ME mostrando espículas (S), papilas pré-anais (PrCP), papilas pós-anais (PoCP) e fasmídeos (Ph).

A cápsula bucal é curta e larga medindo 20-24 x 44-52  $\mu\text{m}$ , em forma de balão de vidro atinge o diâmetro máximo a meio do seu comprimento. A superfície cuticular apresenta estriações transversas grosseiras em ambos os sexos, conferindo uma aparência “serrilhada” muito característica (Fig. 6). O intervalo entre as saliências da cutícula varia consoante o terço particular do nemátode: a distância entre elas na porção anterior, média e posterior do corpo do parasita é de 15, 20 e 30  $\mu\text{m}$ , respectivamente (Gupta e Kalia, 1978; Naem, 2007c).

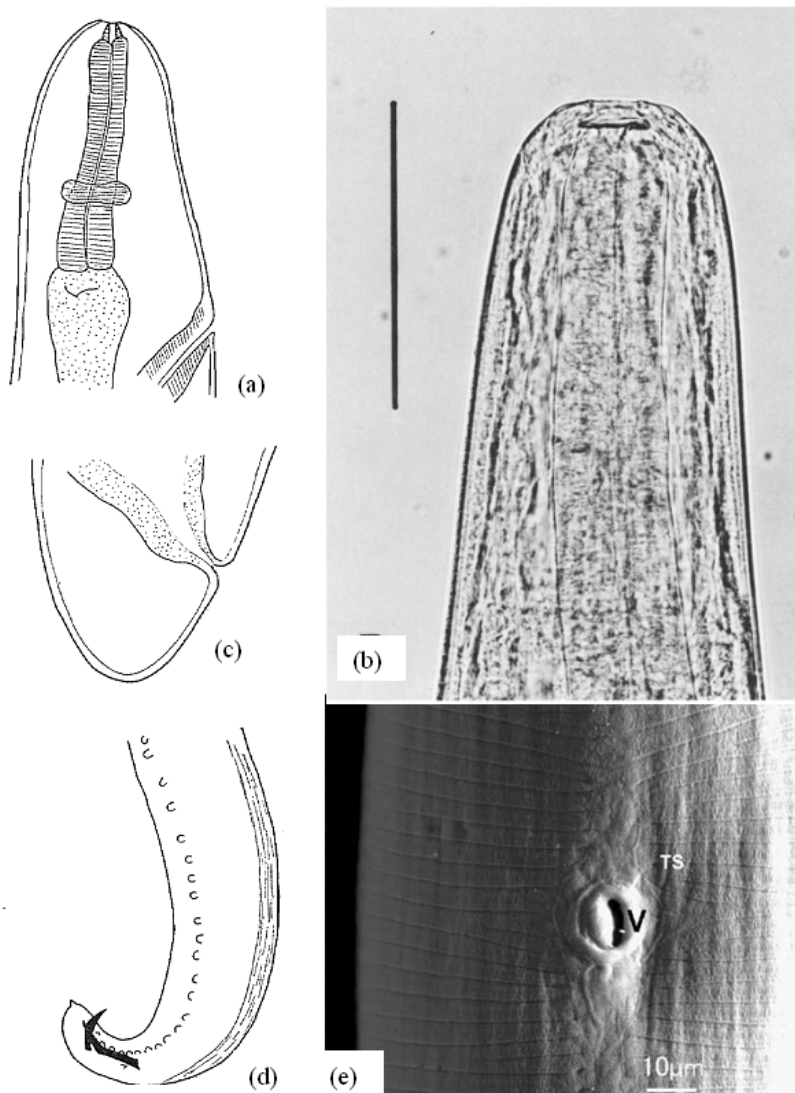
As fêmeas medem 12,5 – 20,5 mm de comprimento e 300 – 500  $\mu\text{m}$  de largura. A vulva encontra-se na região esofágica e apresenta um padrão característico na cutícula em redor da mesma. As mensurações realizadas por Naem (2007c) colocam a vulva a 505,2 – 536,3  $\mu\text{m}$  da margem cefálica. Contudo, Gupta e Kalia (1978) referem a vulva entre 900 – 1000  $\mu\text{m}$  da extremidade anterior, uma disparidade de dimensões considerável. Tal pode ser devido a um exame diferenciados dos nemátodes por microscopia electrónica e microscopia óptica, respectivamente. Os mesmos autores realizaram medições dos ovos (28-36 x 16-20  $\mu\text{m}$ ) e embriões imaturos (48 x 4  $\mu\text{m}$ ), para além de observarem o anel nervoso a 490 – 592  $\mu\text{m}$  da extremidade anterior.

Os machos medem 7,5 – 14,5 mm de comprimento e 320 – 475  $\mu\text{m}$  de largura. Observações demonstram o anel nervoso a 464 – 544  $\mu\text{m}$  do extremo anterior. A cauda apresenta 14 pares de papilas pré-anal, uma papila singular directamente anterior à cloaca, e um par de papilas pós-anal. A extremidade posterior apresenta ainda espículas desiguais com 624-850  $\mu\text{m}$  e 100-130  $\mu\text{m}$  de comprimento, respectivamente (Gupta e Kalia, 1978; Naem, 2007c).

### **3.2.2 *Thelazia skrjabini***

Os trabalhos de Kennedy e MacKinnon (1994) demonstraram uma diferença significativa entre a localização de *T. skrjabini* e de *T. gulosa* nas estruturas oculares. Estes autores determinaram que os dois principais ductos lacrimais associados à glândula Harderiana continham a maioria dos nemátodes da espécie *T. skrjabini*. Contudo, esta espécie já foi recolhida de ductos da glândula lacrimal orbital, da face interna da terceira membrana, da superfície ocular e do saco conjuntival de bovinos (*Bos grunniens*, *B. taurus*) e veados de cauda branca (*Odocoileus virginianus*) (Kennedy e Moraiko, 1987; Kennedy *et al.*, 1993; Anderson, 2000).





**Figura 7: Características morfológicas de *Thelazia skrjabini*.**

(Adaptado de Gupta e Kalia, 1978; Krafur e Church, 1985; Naem, 2007a).

(a) e (b) região anterior de fêmea;  
(c) região posterior de fêmea;  
(d) região posterior de macho;  
(e) região anterior de fêmea em ME mostrando vulva (V) e cutícula de estriação transversa fina (TS).

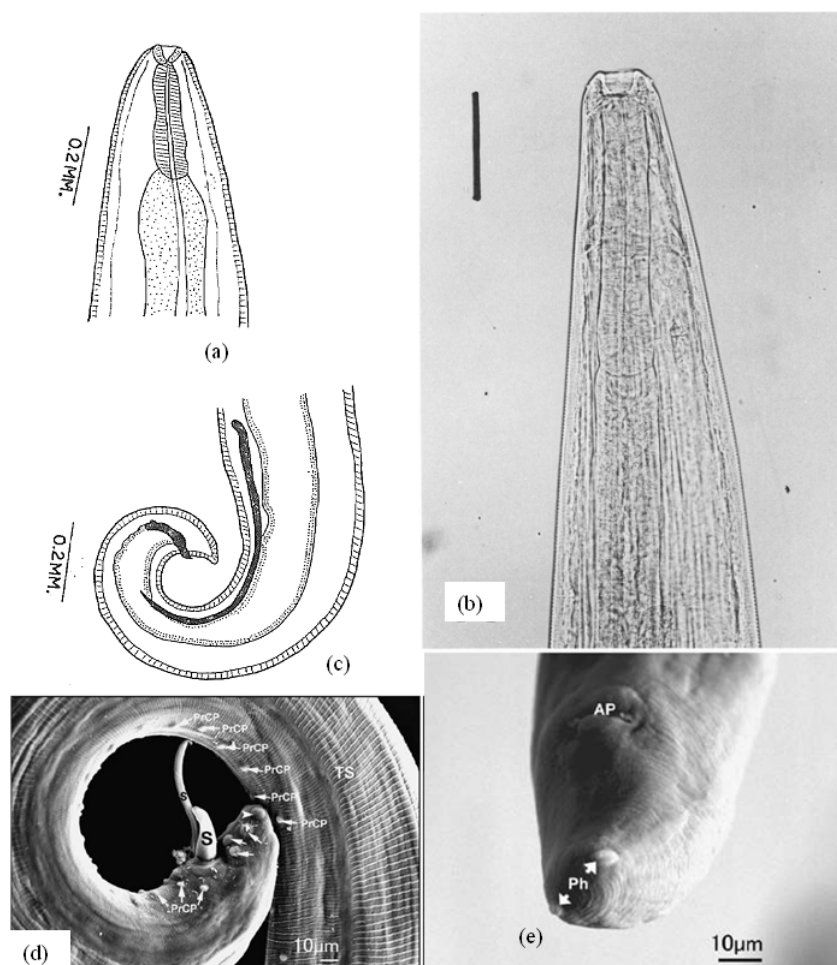
Na extremidade anterior a cápsula bucal é pequena, como é visível na Fig. 7. A cutícula apresenta estriações transversas finas de difícil visualização, segundo Gupta e Kalia (1978) a distância entre estrias varia de 2 – 9  $\mu\text{m}$  (Naem, 2007a).

As fêmeas medem 11 – 19 mm de comprimento e 178 – 378  $\mu\text{m}$  de largura. A vulva encontra-se a 410 – 710  $\mu\text{m}$  da região cefálica, sendo protuberante (Naem, 2007a).

Os machos medem 5 – 9 mm de comprimento e 178 – 260  $\mu\text{m}$  de largura. A cauda apresenta espículas desiguais com 112-185  $\mu\text{m}$  e 82-125  $\mu\text{m}$  de comprimento, respectivamente. Encontrando-se ainda 31 – 38 papilas pré-anais ímpares e dois pares de papilas pós-anais no extremo posterior. O padrão cuticular em redor da cloaca é diferente (Gupta e Kalia, 1978; Naem, 2007a).

### 3.2.3 *Thelazia gulosa*

A *T. gulosa* apresenta, segundo Kennedy e MacKinnon (1994), uma predilecção para o maior ducto ventro-lateral da glândula lacrimal da órbita de bovinos (*Bos grunniens* e *B. taurus*) (Anderson, 2000).



**Figura 8: Características morfológicas de *Thelazia gulosa*.**

(Adaptado de Gupta e Kalia, 1978; Krafur e Church, 1985; Naem, 2007b).

(a) e (b) região anterior;  
(c) região posterior de macho;  
(d) região posterior de macho em ME mostrando espículas (S), papilas pré-anais (PrCP), papilas pós-anais (setas), fasmídeo (ponta de seta) e estriação cuticular transversa (TS);  
(e) região posterior de fêmea em ME mostrando poro anal (AP) e fasmídeos (Ph).

A abertura bucal é redonda e grande, comparativamente com a *T. rhodesi* e a *T. skrjabini* (Fig. 8). A cápsula bucal é cupuliforme, apresentando o diâmetro máximo na abertura bucal e o diâmetro mínimo na sua base. A cutícula apresenta-se finamente estriada transversalmente, existindo alguma uniformidade na distribuição e na forma desta estriação ao longo da superfície do parasita (Gorgot, 1947; Naem, 2007b).

O corpo da fêmea mede 11 – 16 mm de comprimento e 350 – 460 μm de largura no ponto de largura máxima do corpo. A vulva localiza-se a 328 – 648 μm da região cefálica, enquanto o poro anal localiza-se a 70 – 120 μm da extremidade posterior do corpo (Gupta e Kalia, 1978; Naem, 2007b).

O macho mede 5 – 9 mm de comprimento e 300 – 370 μm de largura no ponto máximo da largura corporal. O número de papilas pré-anais varia entre 35 – 40, estas papilas não são emparelhadas, tendo sido observada uma única papila directamente anterior à cloaca. Estão

presentes 3 pares de papilas pós-anais. As espículas são desiguais, medindo 608 -1025 µm e 120-125 µm, respectivamente, apresentando uma estrutura semelhante a um sulco (Gupta e Kalia, 1978; Naem, 2007b).

#### **4. Ciclo biológico**

As características biológicas destes parasitas sugerem que a thelaziose é transmitida indirectamente de um animal infectado (fonte de parasitas), para um indivíduo saudável (receptivo).

Os nemátodes adultos do género *Thelazia* habitam a órbita ocular, onde vivem e se reproduzem. As fêmeas são vivíparas (Neveu-Lemaire, 1936; Euzéby, 1961), produzindo um avultado número de ovos de invólucro fino que embrionam *in utero*, tornando-se larvas L1 totalmente diferenciadas e activas (Anderson, 2000). As fêmeas depositam as larvas L1 nas secreções lacrimais do hospedeiro, as quais são posteriormente ingeridas por insectos Diptera ao alimentarem-se de secreções oculares, lágrimas e conjuntiva do hospedeiro (Otranto e Traversa, 2004). O primeiro estadio larvar de *Thelazia* tem um tempo de sobrevivência muito curto nas secreções lacrimais, apenas sobrevivendo algumas horas, pelo que a transmissão depende da contínua presença de vectores (Iamandi e Teclu, 1937, citados por Euzéby, 1961, p. 208).

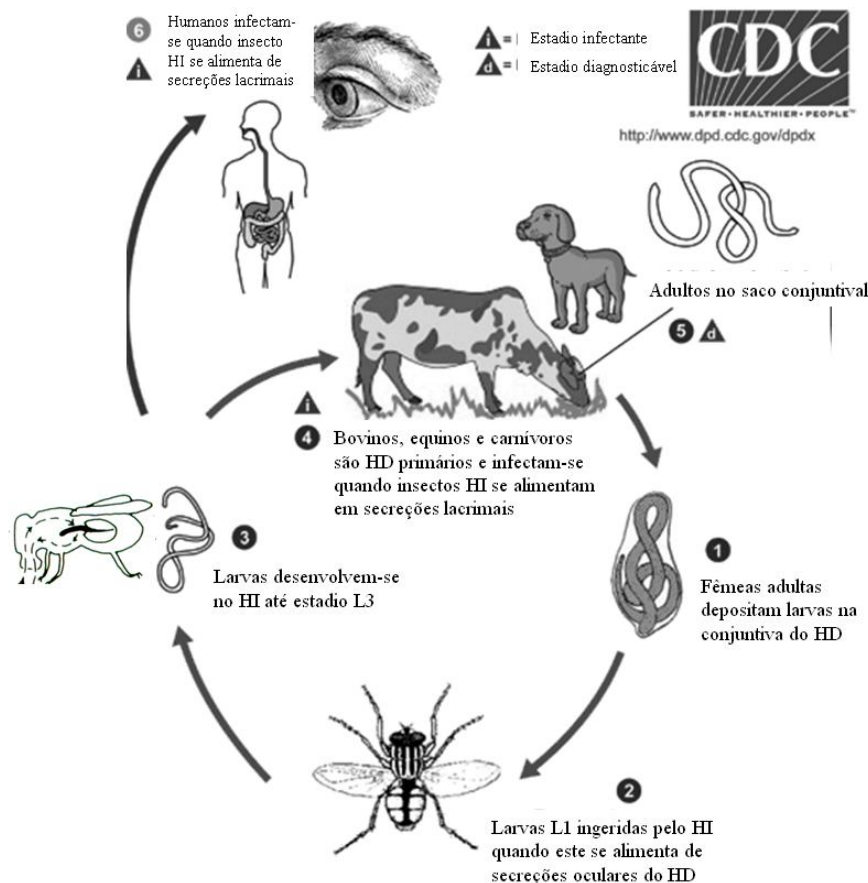
Uma vez ingeridas, as larvas L1 penetram o intestino em uma a quatro horas Pós Infecção (PI) e entram no hemocélio da mosca (Anderson, 2000). O modo como este processo ocorre ainda é desconhecido, todavia Geden e Stoffolano (1982) sugerem a acção de enzimas digestivas, o que parece ser apoiado pelas características observadas por O'Hara e Kennedy (1991) em microscopia electrónica. Os ulteriores autores relatam a presença de uma abertura na extremidade cefálica de larvas L1 de *T. skrjabini*, sob um gancho ventral, cuja função é desconhecida. Contudo, põem a hipótese de esta abertura conduzir a uma glândula secretora de enzimas que, em conjunto com os ganchos dirigidos caudalmente (dois dorsais e um ventral), permitem penetrar o intestino.

No hemocélio as larvas L1 vão invadir determinadas secções abdominais, permanecendo aí encapsuladas e sofrendo duas mudas até se tornarem L3 infectantes. As larvas L1 de *T. rhodesi* foram documentadas enquistadas em folículos ovários de moscas, por Klesov (1950) e Világiová (1967), citados por Anderson (2000, p. 406), atingindo o estadio infectante entre 15 a 30 dias PI. Todavia, Miyamoto *et al.* (1981), citados por Anderson (2000, p. 406), detectaram L3 infectantes de *T. rhodesi* activas 60, 15 e 12 dias PI a 20, 25 e 30°C, respectivamente. Estes resultados demonstram como o desenvolvimento no interior da mosca é dependente da temperatura. As cápsulas de *T. skrjabini* são maioritariamente encontradas no

abdômen, mais precisamente na gordura corporal, sendo necessários pelo menos 9 dias PI (média de 16 dias) para serem formadas larvas infectantes em condições experimentais de 27°C (O'Hara e Kennedy, 1991). Quanto à espécie *T. gulosa*, as cápsulas são descritas unidas à parede abdominal por Geden e Stoffolano (1982) e O'Hara e Kennedy (1991), necessitando de até 9 dias PI para desenvolver larvas L3 infectantes no vector experimentalmente mantido entre 28-30°C.

As L3 infectantes libertam-se das cápsulas e migram anteriormente para a probóscide da mosca, de forma que quando a mosca se alimenta as larvas L3 rastejam a partir da probóscide para o olho do novo hospedeiro e continuam o ciclo (Kennedy *et al.*, 1990). As L3 de *T. rhodesi* medem 6,7 – 7,5 mm de comprimento e 160 – 180 µm de largura, mensurações grandes comparativamente às larvas L3 de *T. skrjabini* e *T. gulosa* que apresentam aproximadamente o mesmo comprimento ( 2,1 – 2,86 mm e 2,1 – 2,5 mm, respectivamente) e 89 – 110 µm de largura para a *T. gulosa*, superior aos 64 – 82 µm de largura da *T. skrjabini* (O'Hara e Kennedy, 1991; Kennedy e MacKinnon, 1994). Esta última apresenta estriações pronunciadas da cutícula estendendo-se ao longo de  $\frac{1}{2}$  a  $\frac{2}{3}$  do seu corpo, o esófago mede entre 180 – 220 µm e o primórdio genital encontra-se entre 47 – 76 µm da extremidade posterior (O'Hara e Kennedy, 1991). Vários autores relatam uma predilecção para determinados locais do globo ocular específicos para cada espécie de *Thelazia* (Arbuckle e Khalil, 1978; Kennedy e MacKinnon, 1994). A larva L3 de *T. rhodesi* é provavelmente demasiado comprida e larga para penetrar em ductos, daí a sua localização tendencialmente na superfície ocular. Quanto à *T. gulosa* e *T. skrjabini*, os factores que definem os locais ocupados por estes nemátodes são desconhecidos, pois estes parecem desenvolver-se igualmente bem em qualquer ducto lacrimal que consigam penetrar. Evidências demonstram que os vectores muscídeos alimentam-se maioritariamente no canto medial do olho, portanto a maioria das larvas L3 são depositadas medialmente em vez de lateralmente. Encontra-se assim implícita a deslocação de larvas ao longo do olho, neste contexto o diâmetro superior das L3 de *T. gulosa* provavelmente dificulta a sua deslocação sob a membrana nictitante mais do que ao longo do saco conjuntival. Assim, os nemátodes da espécie *T. gulosa* serão mais prevalentes nos ductos lacrimais, enquanto a *T. skrjabini* é mais prevalente nos ductos da glândula Harderiana (Kennedy e MacKinnon, 1994).

No globo ocular o ciclo termina sem mais migrações, as larvas L3 sofrem uma muda para L4 e posteriormente atingem o estadio adulto (Fig. 9). O período pré-patente para a *T. rhodesi* varia entre 20 a 25 dias, enquanto para a *T. gulosa* apenas parece ser necessário um período de 7 dias (Klesov, 1950).



**Figura 9: Ciclo de vida de *Thelazia* spp.**  
(Adaptado de Centers for Disease Control and Prevention, 2004).

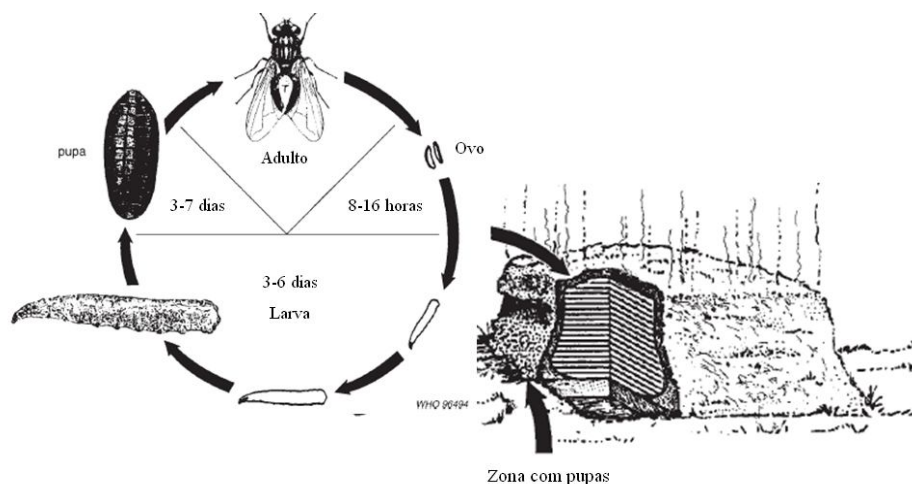
## 5. Vectores

A *Thelazia* spp. necessita de um vector, que actue igualmente como HI, para completar o seu ciclo de vida. A *Musca autumnalis*, também denominada de mosca da face, foi a primeira a ser identificada como HI e vector de thelaziose bovina (Klesov, 1950). Esta tem vindo a ser consagrada como principal responsável pela transmissão do nemátode em várias partes do mundo, em especial na América do Norte e Itália (Kennedy *et al.*, 1990; Krafur e Moon, 1997; Anderson, 2000; Gianspero *et al.*, 2004). A relação interespecífica inevitável entre o género *Thelazia* e o vector Muscideo torna vantajoso conhecer a biologia e fenologia deste último.

A mosca da face é semelhante à sua “parente” mosca doméstica (*Musca domestica*), com um corpo ligeiramente maior e mais escuro. A predilecção da *M. autumnalis* para congregar em redor da face dos animais em pastagens também ajuda a distingui-las (Campbell, 1994; Zurek, 2004). Aliás, contrariamente à mosca doméstica, que faz jus ao seu nome e prefere o interior de casas, a *M. autumnalis* adulta durante o Verão evita edifícios. Inclusive são observadas a deixar as vacas leiteiras quando estas entram no paddock para a ordenha, preferindo esperar

no exterior e voltando a aglomerar-se em redor dos animais quando estes surgem (Bowman, 1999).

As moscas da face apresentam a capacidade de hibernar através da supressão da oogénese em adultos, num período denominado de diapausa pré-reprodutiva. As moscas hibernantes reemergem em massa na Primavera, num momento determinado pela soma de horas em que a temperatura ambiente permaneceu acima de 12°C desde o início do ano (Krafsur e Church, 1985). Após um curto período reprodutivo, as fêmeas dispersam para pastagens de forma a obter proteína. As moscas são capazes de voar distâncias consideráveis, até vários quilómetros, contudo tendem a permanecer na vizinhança dos bovinos (Zurek, 2004). Tal deve-se ao facto das fêmeas terem preferência por sangue e secreções oculares de animais como fonte de proteína, apesar de conseguirem suportar a vitelogénese a partir de outros substratos (Krafsur e Moon, 1997). Os ovos depositados em trilhos de esterco oriundos de bovinos neste contexto vão constituir a primeira geração de moscas da Primavera, ocorrendo entre Março e Maio na América do Norte (Fig. 10). O ciclo gonadotrófico é concluído em 1 a 4 semanas, sendo determinado pela temperatura (>12°C) e estado nutricional das fêmeas. Os ovos são depositados na superfície do esterco fresco deixado no rasto dos bovinos, onde os mesmos são vulneráveis a stress térmico, afogamento por fortes chuvadas e predação por outros insectos. O desenvolvimento de ovos até adultos ocorre no mínimo em 11 dias, com uma média de aproximadamente 14 dias, dependendo da temperatura ambiente (Krafsur e Moon, 1997).



**Figura 10: Ciclo biológico do género *Musca*.**  
(Adaptado de World Health Organization, 2010)

O número de moscas normalmente aumenta até atingir um máximo sazonal na fase final do Verão, quando a diapausa de Outono começa a manifestar-se pelo término da época reprodutiva. As fêmeas vivem em média 11 dias no Verão, sendo que moscas múltiparas

podem ser encontradas até meio de Outubro, apesar de se tornarem cada vez mais raras a partir de meados de Setembro. As fêmeas destinadas à diapausa tornam-se adultas no final do Verão, não ocorrendo desenvolvimento ovárico, mas sim uma acumulação de gordura em preparação para a hibernação (Krafsur e Church, 1985). Estas moscas permanecem assim nulíparas ao longo do Inverno, uma vez que a diapausa acarreta alterações comportamentais que levam à ausência de cópula e consequentemente estas deixam de procurar bovinos para se alimentar (Krafsur e Moon, 1997).

Estudos demonstram que qualquer estadio da mosca consegue sobreviver a breves exposições a temperaturas entre -7 e 0°C, como pode acontecer em manhãs de geada no Outono ou na Primavera. Contudo, apenas adultos em diapausa conseguem tolerar temperaturas inferiores a -8°C por algumas horas e mesmo estes seriam incapazes de sobreviver mais que um dia a temperaturas inferiores a -8°C (Krafsur e Moon, 1997). Assim, os locais de hibernação devem ter características protectoras de extremos térmicos, como celeiros, casas e outros edifícios, e áreas protegidas no exterior. Aliás, as moscas apresentam uma tendência para hibernar nos mesmos locais ano após ano (Campbell, 1994).

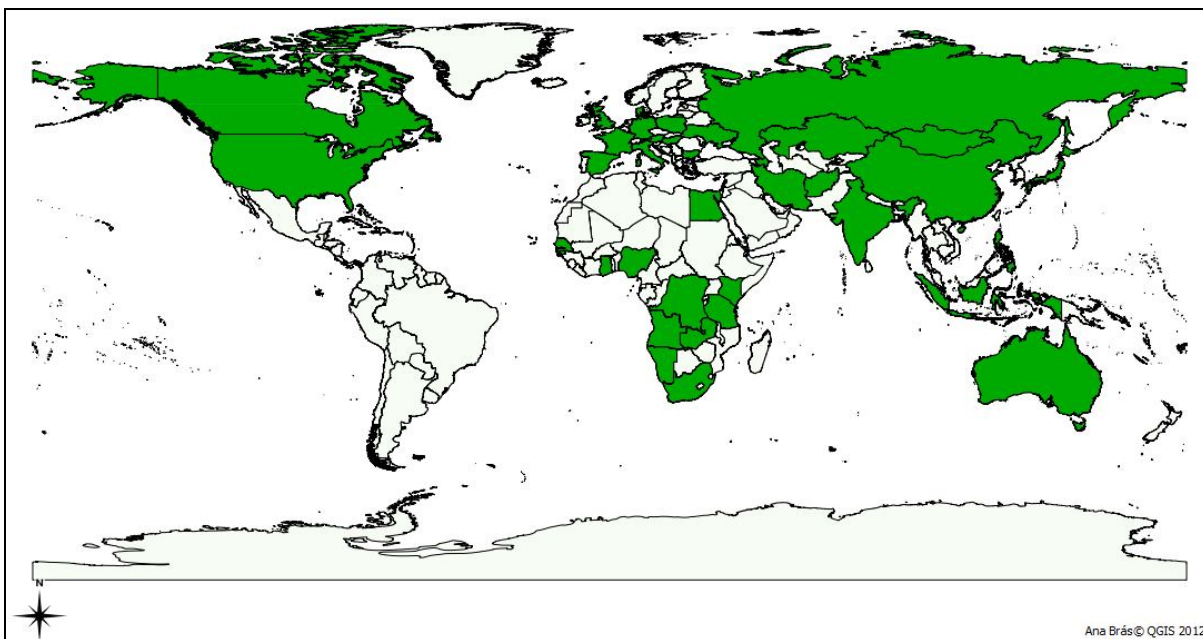
## **6. Epidemiologia**

A epidemiologia da thelaziose bovina depende da existência de HD receptivos; do modelo de pastoreio; do manejo animal; da presença, biologia e etiologia das moscas que actuam como HI; de variáveis ambientais e de factores meteorológicos.

### **6.1 Distribuição geográfica**

A *Thelazia* é um género parasitário cosmopolita. Quanto às espécies que parasitam bovinos, a Fig. 11 representa os países onde foi documentada oficialmente a sua presença (será de ressaltar a possível existência de relatos noutros países, aos quais a autora eventualmente não teve acesso). Assim, as espécies responsáveis pela thelaziose bovina encontram-se amplamente distribuídas em parte da Europa, Ásia, África, Austrália, América do Norte e do Sul (Kennedy *et al.*, 1990; Aken *et al.*, 1996; Anderson, 2000; Otranto e Traversa, 2005).

Na Península Ibérica a thelaziose bovina apenas foi relatada em Espanha por Jordano (1945), com o reconhecimento da espécie *T. rhodesi* em bezerros localizados em Sevilha. Em Portugal não existem descrições oficiais da presença desta parasitose, contudo encontram-se relatos não oficiais de infecção em bezerros do Alentejo que remontam há 20 anos atrás.



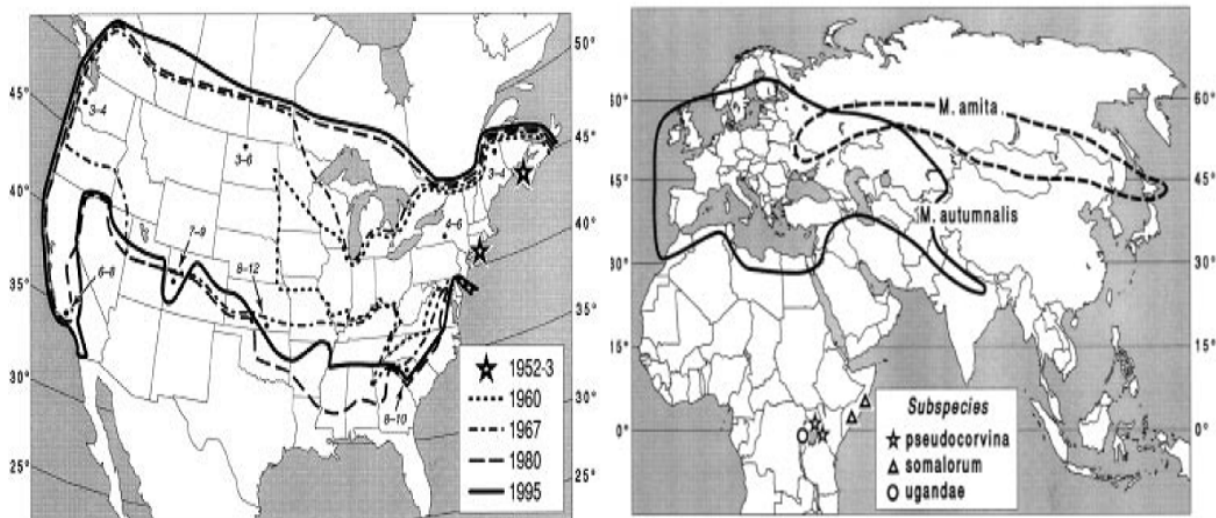
**Figura 11: Distribuição mundial de *T. rhodesi*, *T. skrjabini* e *T. gulosa* em bovinos.**

Nota: Apesar de Otranto e Traversa (2005) referirem a parasitose na América do Sul, não são mencionados países e portanto essa região não se encontra assinalada no mapa.

Estudos moleculares demonstram uma semelhança de sequências de nucleótidos entre *T. skrjabini* e *T. gulosa*, significativamente superior aos resultados entre cada uma destas espécies e a *T. rhodesi*. Estes dados sugerem a existência de uma afinidade próxima entre a *T. skrjabini* e a *T. gulosa*, uma noção consistente com a similaridade de características morfológicas entre ambas. Além do mais, estudos epidemiológicos revelam uma distribuição mundial para *T. rhodesi*, com especial ênfase no Velho Mundo ou região paleártica, enquanto a *T. skrjabini* e a *T. gulosa* partilham a mesma distribuição geográfica, maioritariamente no Novo Mundo (Krafsur e Church, 1985; Kennedy, 1993). Aliás pensa-se que a *T. gulosa* e *T. skrjabini* tenham sido acidentalmente introduzidas no continente Americano nos Anos 40 com a introdução de um dos seus vectores, a mosca da face, *Musca autumnalis* (Kennedy *et al.* 1990; Krafsur e Moon, 1997).

Como as restantes Spiruroides, a *Thelazia* spp. existe em todos os países quentes e temperados que favoreçam o ciclo de vida de insectos HI do parasita. Aliás a comparação entre a distribuição geográfica mundial de thelaziose bovina e dos seus hospedeiros intermediários (Fig. 12) vem demonstrar uma correlação inequívoca entre ambas. A *Musca autumnalis* é endémica para latitudes temperadas da Europa, Norte de África, Ásia central e América do Norte; ocorrendo isoladamente subespécies de *M. autumnalis* no Este de África. Diversas espécies de *Musca* são simpátricas da mosca da face em regiões temperadas, como a *M. amita*, a *M. osiris*, a *M. sorbens*, a *M. vitripennis* e a *M. larvipara*, ocorrendo em grande parte da amplitude geográfica da *M. autumnalis* (Krafsur e Moon, 1997).





**Figura 12: Distribuição mundial da espécie *Musca autumnalis* e três subespécies.**  
(Adaptado de Krafusur e Moon, 1997).

Segundo Euzéby (1961), em países tropicais e subtropicais o parasita evoluiria em todas as estações, ao contrário de países temperados onde a infecção em bovinos apresentaria características sazonais, manifestando-se tendencialmente no Verão, estação com abundância de moscas. Esta noção parece contrariar resultados obtidos na Zâmbia e nas Filipinas, países de clima tropical de altitude e de monção, respectivamente. Num estudo realizado na Zâmbia por Ghirotti e Iliamupu (1989), foram documentadas discrepâncias entre a prevalência total de *T. rhodesi* em bovinos na estação seca (3,1%, n=223) e chuvosa (26,6%, n=248). Os autores atribuíram estas observações às condições climáticas que são mais favoráveis à sobrevivência do HI na estação chuvosa, entre Novembro e Fevereiro, do que na estação seca quando a baixa humidade relativa inibe o desenvolvimento de Muscídeos. Analogamente, nas Filipinas a incidência de infecção foi significativamente superior no período entre Maio e Julho e reduzida nos meses de Fevereiro a Abril e de Agosto a Outubro, apesar de os muscídeos se encontrarem activos durante todo o ano (Aken *et al.*, 1996).

A nível regional, vários ensaios demonstram que a prevalência de *Thelazia* spp. em bovinos se encontra associada a factores topográficos e ambientais (Kennedy, 1993; Zubairova e Ataev, 2010). A ocorrência regional de *Thelazia* em bovinos e muscídeos depende da distribuição de bovinos infectados, da dispersão de moscas infectadas e da capacidade de uma região suportar a população de moscas. Os dois últimos são por sua vez limitados pelo tipo de pastagem ou habitats regionais, que afectam a distribuição e abundância dos vectores, como a *Musca autumnalis* (Kennedy, 1993). As moscas adultas não se distribuem ao acaso na pastagem, mas sim preferem vales próximos a cursos de água e até 10 metros de locais de repouso dos bovinos (Pickens e Nafus, 1982, citados por Kennedy, 1993, p. 868). Deve ser

tido em conta que as moscas visíveis num bovino num dado momento são predominantemente fêmeas, as quais representam menos de 5% da população total feminina na vizinhança do rebanho. Este valor demonstra bem como o tempo de permanência nos animais é curto e a rotatividade bastante rápida. A proporção de moscas nos bovinos é influenciada pelo estatuto gonadotrófico, o tempo meteorológico, e o comportamento e localização dos bovinos (Krafsur e Moon, 1997).

No Canadá, Kennedy (1993) demonstrou um número significativamente superior de bovinos infectados com *Thelazia* spp. em zonas de floresta (18,4%) e vegetação grosseira com alguns arbustos (11,3%). Enquanto bovinos em pastagens abertas de erva rasteira e média apresentaram a menor prevalência de infecção (0 e 1,5%, respectivamente). Os bovinos em pastagens abertas e secas têm tendencialmente menos moscas que bovinos em pastagens com sombra e fontes de água (tanques, lagos e ribeiros). A presença de trilhos de esterco de bovinos ao longo de cursos de água ou à sombra de vegetação vão permitir completar o ciclo de vida da mosca, pelo contrário, nos trilhos de esterco em áreas abertas pode ocorrer uma secagem do esterco antes das larvas completarem o seu desenvolvimento até ao estadio adulto (Campbell, 1994).

Os autores Zubairova e Ataev (2010) descrevem bovinos com níveis de infecção decrescentes entre zonas de planície (38%), submontanha (20%) e montanha (5%) na Rússia. Estes resultados estão em concordância com estudos da década de 60 (Világiová (1968), citada por Kennedy, 1993, p. 868) que apontam a associação entre planícies arborizadas e altas prevalências de *Thelazia* spp..

## **6.2 Relação entre *Thelazia* spp. e hospedeiro intermediário**

Como já foi discutido, a presença de *Thelazia* spp. depende de factores que controlam a existência do HI, ou seja, a presença de habitats adequados e condições ambientais idóneas. Várias espécies de mosca do género *Musca* já foram apontadas como vectores apropriados, em parte por apresentarem comportamentos alimentares de risco, alimentando-se de secreções oculares de animais ou humanos, e ainda de frutos e seiva de árvores (Kennedy *et al.*, 1990). Consoante a região geográfica e condições atmosféricas consideradas são implicadas determinadas espécies de mosca na transmissão de thelaziose bovina, enunciadas na Tabela 5. A dissecação microscópica de moscas infectadas e identificação morfológica de larvas recolhidas tem sido a técnica mais utilizada na detecção de infecção em vectores (O'Hara e Kennedy, 1991; Otranto e Traversa, 2005). Todavia esta técnica apresenta constrangimentos (por exemplo: baixa sensibilidade, necessidade de operadores bem treinados, entre outras) que, associados à baixa prevalência e intensidade de infecção em moscas, podem levar a

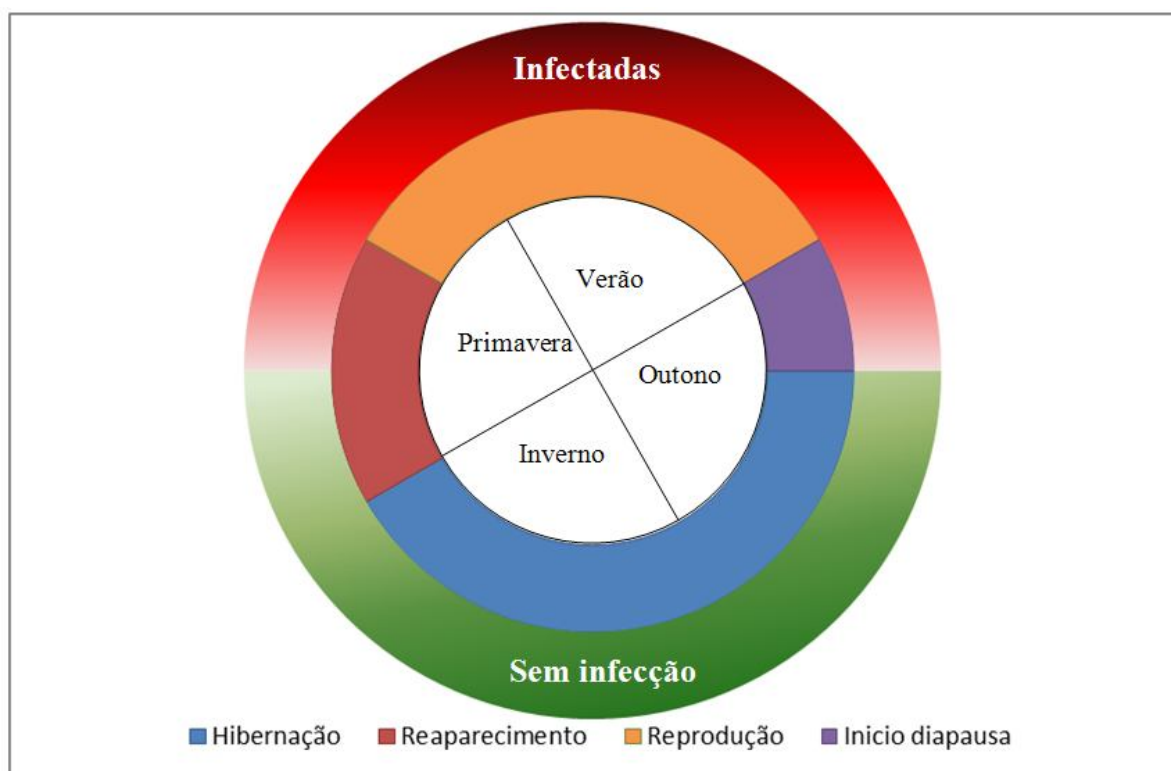
resultados subestimados. A própria identificação morfológica de larvas quanto à espécie de *Thelazia* apenas é possível por comparação com larvas recolhidas de moscas infectadas laboratorialmente (Otranto *et al.*, 2001). Por conseguinte, verifica-se um número diminuto de investigações epidemiológicas de thelaziose bovina no seu HI, as poucas existentes foram na sua maioria realizadas na América do Norte e ex-URSS (Klesov, 1950; O'Hara e Kennedy, 1991; Anderson, 2000).

**Tabela 5: Espécies de *Thelazia*, vectores e distribuição geográfica.**

<b>Espécie</b>	<b>Vector</b>	<b>Distribuição geográfica</b>	<b>Referências</b>
<i>T. gulosa</i>	<i>Musca autumnalis</i>	América do Norte e Europa	Geden e Stoffolano (1982), Giangaspero <i>et al.</i> (2004)
	<i>Musca larvipara</i>	Ucrânia, Itália	Klesov (1950), Giangaspero <i>et al.</i> (2004)
	<i>Musca amica</i>	Ex-URSS	Krastin (1950), citado por Anderson (2000, p. 405)
	<i>Musca vitripennis</i>	Ucrânia	Krastin (1950), citado por Anderson (2000, p. 405)
	<i>Musca domestica e Musca osiris</i>	Itália	Giangaspero <i>et al.</i> (2004)
<i>T. rhodesi</i>	<i>Musca autumnalis e Musca larvipara</i>	Ucrânia, Itália	Klesov (1950), Giangaspero <i>et al.</i> (2004)
	<i>Musca convexifrons</i>	Desconhecido	Krastin (1950), citado por Anderson (2000, p. 405)
	<i>Musca sorbens</i>	Senegal	Grétilat e Touré (1970), citados por Anderson (2000, p. 406)
	<i>Musca hervei</i>	Desconhecido	Miyamoto <i>et al.</i> (1981), citados por Anderson (2000, 406)
	<i>Musca crassirostris e Musca domestica</i>	Desconhecido	Otranto e Traversa (2005)
<i>T. skrjabini</i>	<i>Musca amica e Musca vitripennis</i>	Desconhecido	Krastin (1952) e Skrjabin <i>et al.</i> (1967), citados por Anderson (2000, p. 407)
	<i>Musca autumnalis</i>	América do Norte	O'Hara e Kennedy (1991)
	<i>Musca osiris e Musca hervei</i>	Desconhecido	Otranto e Traversa (2005)

A transmissão de thelaziose começa na Primavera e continua até ao Outono, como é representado na Fig. 13. Na América do Norte as moscas em diapausa reprodutiva ou dedicadas à diapausa no Outono e Inverno não revelam larvas de *Thelazia*, consecutivamente moscas nulíparas em pós-diapausa na Primavera também não demonstram em geral qualquer infecção. Deprendendo-se assim que a *Thelazia* spp. não hiberna nas moscas da face, mas sim a infecção persiste nos olhos de bovinos durante o Inverno (Krafsur e Church, 1985; Krafsur e Moon, 1997).

As primeiras cápsulas de formas larvares de *Thelazia* em mosca são detectadas com a aparição de moscas paríparas na Primavera e a proporção de moscas infectadas torna-se daí em diante proporcional à população de moscas múltíparas. Verifica-se assim que tendencialmente apenas moscas que já se alimentaram de secreções bovinas e viveram para depositar ovos se encontram infectadas (Krafsur e Church, 1985). As moscas depositam ovos a cada 1 a 4 semanas e alimentam-se de secreções animais repetidamente entre deposições de ovos. A alimentação frequente favorece assim a dispersão de nemátodes pelo rebanho de bovinos, levando ainda a que moscas mais velhas apresentem um número de contactos com bovinos infectados potencialmente superior (Moolenbeek e Surgeoner, 1980; Kennedy, 1994). Os autores Krafsur e Moon (1997) referem uma prevalência de infecção em moscas múltíparas de 1,8% em Maio e 3,8% em Junho, sugerindo que as fêmeas de *Thelazia* no HD estão a excretar larvas L1 quando as moscas em pós-diapausa entram em actividade.



**Figura 13: Relação entre o ciclo biológico de mosca ao longo do ano e a ocorrência de infecção por larvas de *Thelazia* em moscas, num clima temperado.**  
Desenhado por Ana Brás.

Encontram-se moscas infectadas até finais de Setembro e Outubro, contudo estas são moscas reprodutoras múltiplas, anciãs e incapazes de hibernar (Krafsur e Church, 1985). O facto de larvas L4 de *Thelazia* serem em geral encontradas em bovinos no período entre Julho e Novembro indica a cessação da transmissão no Outono, explicada pela diapausa que vai interromper a alimentação das moscas nos bovinos (Moolenbeek e Surgeoner, 1980; Krafsur e Moon, 1997).

Como já foi mencionado, o tamanho da população muscídea é influenciado por alterações da temperatura ambiental. Aliás, a análise de qualquer estudo deve levar em conta as variações de temperatura média durante a estação quente do ano anterior ao estudo, que podem influenciar o número de moscas a hibernar e, portanto, o número de moscas adultas no início do ano seguinte (Tweedle *et al.*, 2005). Depreende-se assim que qualquer referência a meses específicos no âmbito da biologia da mosca deve ser aplicada com cuidado na prática.

Uma investigação levada a cabo por Giangaspero *et al.* (2004) em Itália, utilizando técnicas moleculares, permitiu obter resultados claros e sem os constrangimentos associados à dissecação e identificação de vectores e larvas. Os autores identificaram especificamente por PCR a presença de *T. gulosa* em *Musca autumnalis*, *M. larvipara*, *M. osiris* e *M. domestica*, e *T. rhodesi* em *Musca autumnalis* e *M. larvipara*. Os valores máximos de prevalência média de infecção foram obtidos para a *Musca autumnalis* (4,46%) e a *Musca larvipara* (3,21%). Contudo, Geden e Stoffolano (1981), encontraram *M. domestica* infectadas com nemátodes de *Thelazia* spp. não viáveis e sinais de resposta imunitária do hospedeiro, indicando esta espécie como um HI inadequado.

O número médio de nemátodes encontrados é de 2,3 – 3,1 larvas por mosca infectada (Moolenbeek e Surgeoner, 1980; Geden e Stoffolano, 1981; Krafsur e Church, 1985). Quanto à prevalência de *Thelazia* spp. estimada em populações de moscas, esta varia entre 0,4 e 13,2% (Klesov, 1950; Moolenbeek e Surgeoner, 1980; Geden e Stoffolano, 1981; Giangaspero *et al.*, 2004).

### **6.3 Relação entre *Thelazia* spp. e hospedeiro definitivo**

A thelaziose bovina é a thelaziose animal mais documentada, provavelmente devido à susceptibilidade de bovinos à parasitose e ao facto de animais em pastagem aberta estarem mais expostos aos vectores muscídeos que outros animais (por exemplo: carnívoros) (Otranto e Traversa, 2005).

A sazonalidade de infecção por *Thelazia* spp. tem vindo a ser relatada por vários autores (Klesov, 1953; Arbuckle e Khalil, 1978). Não obstante a presença de nemátodes adultos em

bovinos ao longo de todo o ano, denota-se um padrão na dinâmica de parasitismo, com uma prevalência máxima no final do Verão devido ao surgimento de novos adultos a partir de formas larvares transmitidas pelos vectores no início do Verão (Otranto e Traversa, 2005). Este pico é por vezes precedido por um acentuado decréscimo de parasitismo, devido à morte dos nemátodes adultos que residiram durante o Inverno no olho do HD (Klesov, 1953). Uma vez que os muscídeos apenas se encontram activos entre a Primavera e o final do Verão, as oportunidades de infecção de bovinos são limitadas a este período, implicando uma longevidade do parasita no HD de 6 meses ou mais (Tweedle *et al.*, 2005). Aliás, Petrov *et al.* (1940), referem a sobrevivência do nemátode em bovinos durante 9 a 10 meses. A denotar ainda as experiências realizadas por Iamandi e Teclu (1937), citados por Euzéby (1961, p. 208), demonstrando que a sobrevivência de larvas L1 em solução salina fisiológica é muito curta (algumas horas) e provavelmente será igualmente curta nas secreções lacrimais do HD. Assim, a transmissão vai depender da presença contínua de vectores, em meio infectado, de forma a ingerirem as larvas L1 antes da sua morte natural. Desta forma os períodos de presença ou ausência de nemátodes imaturos e adultos nos olhos de HD podem variar de ano para ano consoante as condições climáticas afectem o HI (Aken *et al.*, 1996).

No Reino Unido, Arbuckle e Khalil (1978) referem um aumento da prevalência de infecção em bovinos a partir de finais de Junho, Julho e Agosto. No início do Verão o número de estadios imaturos de *Thelazia* em bovinos aumentou em simultâneo com o desaparecimento dos adultos, sugerindo que o processo de desenvolvimento das formas larvares causaria a morte ou expulsão da população adulta do ano anterior.

Na Ucrânia Klesov (1949), citado por Moolenbeek e Surgeoner (1980, p. 52), relata que conjuntivites em animais infectados por *Thelazia* coincidiram com a morte de nemátodes adultos e a infecção por indivíduos novos. Levando Ikeme (1967), citado por Moolenbeek e Surgeoner (1980, p. 52), a especular que a morte de nemátodes pode levar a infecções secundárias bacterianas as quais, associadas a trauma físico produzido pelas formas imaturas, provocariam as lesões oculares (O'Hara e Kennedy, 1991). Similarmente, em França, os sinais clínicos de infecção manifestaram-se em Junho. A extensão máxima da thelaziose ocorreu de Julho a Setembro, regredindo em Outubro e desaparecendo no Inverno (Euzéby, 1961). As evidências apontam assim para uma associação entre surtos de doença ocular e a actividade de moscas na estação quente (Kennedy *et al.*, 1990). Contudo, é fundamental descartar a possibilidade de outros agentes transmitidos por moscas, como a *Moraxella bovis*, estarem também implicados nas alterações oculares observadas.

A infecção por *Thelazia* spp. vai depender da existência de HD receptivos, conquanto a prevalência de infecção não parece ser afectada pelo sexo, raça e função (carne vs leite) dos animais (Ladouceur e Kazacos, 1981; Kennedy *et al.*, 1990). Em contrapartida, os investigadores são deveras coerentes relativamente à correlação entre a idade dos bovinos e a presença de infecção por *Thelazia* spp., apesar de se verificar que os grupos etários evidenciando uma prevalência máxima divergem. Os autores Aken *et al.* (1996) relatam uma taxa de infecção superior entre animais com mais de 36 meses, enquanto Arbuckle e Khalil (1978) referem idades entre 21 a 38 meses com maior taxa de infecção. Não obstante, o consenso entre investigadores refere que bovinos adultos, tendencialmente com mais de 2 anos de idade, apresentam uma prevalência superior comparativamente a animais jovens (Ladouceur e Kazacos, 1981; Krafur e Church, 1985; Kennedy *et al.*, 1990). Estes achados parecem indicar que os bovinos não desenvolvem resistência contra este parasita. O aumento da prevalência com a idade seria o resultado do aumento de oportunidades de infecção ao longo da vida do animal, combinado com um longo período de sobrevivência destes nemátodes no olho (Aken *et al.*, 1996; Otranto e Traversa, 2005).

Quanto à intensidade de infecção, ou seja, o número de nemátodes presentes em animais infectados, a idade e o sexo não parecem ser fontes de variação significativas. Ao contrário da função dos bovinos, sendo que Kennedy *et al.* (1990) encontraram mais nemátodes em bovinos de carne ( $6,2 \pm 1,35$  nemátodes) do que de leite ( $0,27 \pm 2,22$  nemátodes). Os autores justificam este achado com diferenças de manejo entre bovinos de carne e de leite, levando a que rebanhos de carne sejam normalmente mais importunados por moscas que bovinos de leite. Tal é em parte justificado pela ausência de vacas de leite das pastagens duas vezes por dia devido à ordenha. Como a *M. autumnalis* raramente é observada dentro de casa é pouco provável ocorrer transmissão de *Thelazia* durante a ordenha. Seria de esperar com estes resultados que bovinos de carne apresentassem mais sinais clínicos comparativamente a bovinos de leite, contudo os autores não referem a presença ou ausência de alterações oculares em nenhum dos grupos.

A evolução dos resultados obtidos em estudos realizados nos últimos 40 anos indicia uma diminuição da prevalência de *Thelazia* spp. em bovinos, bem como do número máximo de nemátodes recolhidos por animal ou olhos infectados (ver Tabela 6). Uma tendência especialmente evidente em dois estudos realizados no mesmo matadouro em Surrey, Sul de Inglaterra, com um intervalo de 30 anos (Arbuckle e Khalil, 1978; Tweedle *et al.*, 2005). Os resultados obtidos em 1976 revelaram a presença de nemátodes das espécies *T. gulosa* e *T. skrjabini* em 41,9% (n=237) dos bovinos examinados. Os olhos infectados hospedavam uma

Tabela 6: Estudos publicados no âmbito da prevalência de *Thelazia* spp. em Bovinos (última actualização em 18-08-2012).

País / Região	Período de estudo	Método de amostragem	Tamanho da amostra (animais)	Prevalência (%)			Média de nematodes por animal infectado	Referência
				<i>T. rhodesi</i>	<i>T. skrjabini</i>	<i>T. gulosa</i>		
Alemanha	...	<i>Post mortem</i>	178	-	6,8 (n=23)	-	-	Vilagiova, 1968
Kentucky, EUA	1975	<i>Post mortem</i>	176	-	15 (n=26)	-	min=1; max=83	Lyons e Drudge, 1975
Surrey, Inglaterra	1976	<i>Post mortem</i>	566	-	41,9 (n=237)	-	10,4 (min=1; max=170) por olho infectado	Arbuckle e Khalil, 1978
Massachusetts, EUA	1977-78	<i>Post mortem</i>	795 olhos	-	12,2 (n=97)	-	-	Geden e Stoffolano, 1980
Ontario, Canada	1978	<i>Post mortem</i>	536	-	-	8 (n=43)	5,9 (min=1; max=115) por olho infectado	Moolenbeek e Surgeoner, 1980
URSS	1977-78	-	867	-	10,7 (n=93)	-	min=1; max=57	Ivashkin e Khromova, 1980
Wisconsin, EUA	...	-	114 de leite	-	34,2 (n=39)	-	5	Guietres <i>et al.</i> , 1980
Indiana, EUA	1977-79	-	320	-	28 (n=88)	-	6 (min=1; max=28)	Ladouceur e Kazacos, 1981
Mindanao, Filipinas	...	-	1005	8	-	-	-	Eduardo e Zamora (1984), citados por Aken <i>et al.</i> , 1996
Alberta, Canada	1986	<i>Post mortem</i>	24 de carne 12 de leite	-	Came 20,9 (n=5) Leite 33,3 (n=4)	-	8,6 (min=1; max=41)	Kennedy e Moraiko, 1987
Zaire, RD Congo	...	-	...	49	-	-	11,7	Chartier e Eboma (1988), citados por Aken <i>et al.</i> , 1996
Alberta, Canada	1986-87	<i>Post mortem</i>	297 bovinos de carne e leite	-	Came 21,5 Leite 25,7	-	Came 7,55 Leite 2,49	Kennedy <i>et al.</i> , 1990
Alberta, Canada	1991	<i>Post mortem</i>	410	-	9,3 (n=39)	-	-	Kennedy, 1993
Alberta, Canada	...	<i>Post mortem</i>	1322 olhos	-	9,2 (n=121)	-	5,8 por olho infectado	Kennedy e MacKinnon, 1994
Mindanao, Filipinas	1994-95	<i>Post mortem</i>	643	23 (n=149)	-	-	4,1 (min=1; max=36)	Aken <i>et al.</i> , 1996
Bari, Itália	1995-97	<i>Post mortem</i>	764	5,8 (n=44)	0,1 (n=1)	2,5 (n=19)	-	Giangaspero <i>et al.</i> , 2000
Surrey, Inglaterra	2004	<i>Post motem</i>	195	-	1,5 (n=3)	-	min=1; max=4 por olho infectado	Tweedle <i>et al.</i> , 2005
Parque Kafue, Zâmbia	2005	<i>In vivo</i>	48 búfalos africanos juvenis	4,3 (n=2)	-	-	5,3 (min=4; max=6) por olho infectado	Munang'andu <i>et al.</i> , 2011



média de 10,4 nemátodes (entre 1 e 170 nemátodes) e foram observadas lesões oculares em 4,3% dos olhos infectados. Todavia, no mesmo matadouro em 2004 foram recolhidas as mesmas espécies de *Thelazia* de 1,5% (n=3) dos bovinos examinados, um valor significativamente menor ( $P < 0,001$ ) que o relatado em 1976. Aliás, os olhos infectados continham entre 1 e 4 nemátodes, e não foram associadas lesões oculares com a presença deste parasita. Um declínio tão marcado em todos os campos investigados poderá estar directamente associado com a introdução e subsequente generalização de endectocidas na produção de bovinos desde o início dos anos 80, especialmente considerando que a ivermectina e a doramectina têm uma elevada eficácia contra espécies de *Thelazia*.

## **1. Patogenia, sinais clínicos e lesões**

A relação causa-efeito entre a presença de *Thelazia* spp. e lesões oculares é um tema controverso na comunidade científica. Ao passo que algumas comunicações associam a presença de nemátodes com uma variedade de sinais clínicos e lesões (Salifu *et al.*, 1990; Otranto e Traversa, 2005; Deepthi e Yalavarthi, 2012), outras foram inconclusivas quanto ao papel desempenhado pelo parasita no aparecimento de alterações oftalmológicas em bovinos e detectaram lesões apenas numa pequena porção dos olhos infectados (Geden e Stoffolano, 1980; Moolenbeek e Surgeoner, 1980; Kennedy e Moraiko, 1987; Ghirotti e Iliamupu, 1989; Aken *et al.*, 1996; Tweedle *et al.*, 2005). No Reino Unido os autores Arbuckle e Khalil (1978) detectaram nemátodes em 29% dos olhos com lesões macroscópicas, concluindo que a infecção por *Thelazia* spp. pode ocorrer de forma subclínica. Enquanto, Chartier e Eboma (1988), citados por Aken *et al.* (1996, p. 128), observaram em duas regiões distintas do Zaire que 60% e 100% dos animais com lesões oculares encontravam-se infectados com nemátodes de *Thelazia* spp.. Estes autores verificaram assim a existência de uma associação significativa entre a presença de nemátodes e lesões oculares.

Não obstante a discordância verificada, é um facto que a maioria dos estudos no contexto dos efeitos da thelaziose são baseados em exames oculares *post mortem* de bovinos. Estes não permitem uma avaliação crítica dos efeitos a curto prazo da presença de nemátodes (O'Hara e Kennedy, 1991). Além disso são poucos os estudos que realizam exames histológicos de tecidos infectados, limitando-se à detecção de lesões macroscópicas (Kennedy e Moraiko, 1987). Apenas Moonlenbeek e Surgeoner (1980) realizaram uma pesquisa microscópica de lesões em ductos lacrimais altamente infectados, os quais demonstraram a presença de conjuntivite crónica folicular, todavia esta foi considerada inespecífica de *Thelazia* spp..

O modo de acção patogénico do género *Thelazia* tem por base os movimentos de locomoção realizados pelos parasitas sobre a superfície da conjuntiva, tendo assim uma acção principalmente de ordem mecânica e irritante nos tecidos (Euzéby, 1961). A cutícula estriada

das espécies de *Thelazia* provoca trauma mecânico na conjuntiva e no epitélio corneal resultando em produção excessiva de lágrima, favorecendo assim a transmissão do parasita ao atrair muscídeos que se alimentam das secreções lacrimais contendo larvas L1 (Otranto e Traversa, 2005). Segundo Ladouceur e Kazacos (1981), as lesões mecânicas, se presentes, podem ainda ser factores predisponentes de infecções secundárias bacterianas ou virais. Ao funcionarem como portas de entrada de microrganismos os nemátodes podem provocar um agravamento de lesões oculares inicialmente inócuas (Kennedy e Moraiko, 1987). Neste contexto a *T. rhodesi*, com a sua cutícula de estriações transversas grosseiras e distintamente serrilhadas, seria naturalmente mais patogénica do que as restantes espécies com cutículas apenas ligeiramente estriadas (Aken *et al.*, 1996). No entanto, a invasão da glândula lacrimal e ductos excretores, típico de *T. gulosa* e *T. skrjabini*, pode provocar inflamação e exsudados necróticos (Deepthi e Yalavarthi, 2012).

A parasitose pode afectar quer um único olho quer ambos os olhos, sendo os estadios larvares e adulto responsáveis por alterações oculares. Os sinais clínicos são principalmente os de uma conjuntivite comum de gravidade variável, com epífora, lacrimejar, congestão da conjuntiva, quemose e fotofobia (Salifu *et al.*, 1990; Otranto e Traversa, 2005; Deepthi e Yalavarthi, 2012). Se não for aplicado um tratamento eficaz as lesões podem agravar-se, tornando-se purulentas e vir a ser complicadas por queratite e ulceração da córnea ou mesmo panoftalmite, que pode conduzir à perda do olho (Euzéby, 1961). Encontra-se relatada a ocorrência atípica de nódulos subconjuntivais e até de quistos subconjuntivais contendo nemátodes de *T. gulosa* mineralizados. A conjectura mais provável para a origem destas lesões será a existência prévia de lacerações da conjuntiva que permitiram a entrada de nemátodes com consequente resposta imunitária (Geden e Stoffolano, 1980; Miller e Campbell, 1992).

## **2. Diagnóstico**

O diagnóstico clínico de thelaziose bovina é baseado na inspecção ocular com observação de nemátodes, este método é recomendado para o diagnóstico de *T. rhodesi* normalmente encontrado no saco conjuntival. Contudo, as espécies *T. gulosa* e *T. skrjabini* tendem a ser mais invasivas e portanto mais difíceis de visualizar. A aplicação de anestésicos tópicos permite a manipulação ocular, sendo útil na detecção e recolha de nemátodes. Enquanto o exame microscópico das secreções lacrimais pode revelar larvas L1 (Kaufmann, 1996). A parasitose pode ainda ser encontrada acidentalmente durante cirurgias ou necrópsias, situações em que os nemátodes podem ser encontrados nos pêlos ou pele periorbital durante anestésias ou devido a migração do parasita após a morte do hospedeiro (Aiello e Moses, 2012).

A thelaziose tende a causar uma conjuntivite crónica sazonal, com evolução na estação quente do ano (Euzéby, 1961). Um outro agente partilha as mesmas características sazonais e pode levantar questões quanto ao diagnóstico caso não sejam observados nemátodes de *Thelazia*, trata-se da Queratoconjuntivite Infecciosa Bovina. Os sinais clínicos e anamnese são úteis no estabelecimento de um diagnóstico diferencial, encontrando-se resumidos na Tabela 7.

**Tabela 7: Diagnóstico diferencial entre conjuntivite comum e conjuntivites devidas a *Thelazia* spp. e *Moraxella bovis*.**

	<b>Conjuntivite comum</b>	<b>Thelaziose Bovina (<i>Thelazia</i> spp.)</b>	<b>Queratoconjuntivite Infecciosa Bovina (<i>Moraxella bovis</i>)</b>
<b>Sinais clínicos</b>	Conjuntivite esporádica	Conjuntivite crónica	Conjuntivite aguda
	Não sazonal	Sazonal	Sazonal
	Evolução lenta		Rápida progressão
<b>Idade</b>	Indefinida	> 2 anos	Jovens

### 3. Importância económica

Embora os nemátodes oculares do género *Thelazia* dificilmente provoquem mortalidade entre os animais infectados, a sua associação com conjuntivite, queratite, opacidade corneal e cegueira tem um impacto produtivo negativo. Os animais afectados podem apresentar uma diminuição da ingestão de alimento devido ao desconforto e a uma diminuição da capacidade visual (Munang'andu *et al.*, 2011). Enquanto, no caso de machos afectados ocorre uma redução da sua capacidade reprodutiva (Salifu *et al.*, 1990).

Contudo, o principal impacto económico está ligado a um incorrecto diagnóstico da afecção. Os sinais clínicos inespecíficos de thelaziose bovina são muitas vezes erradamente atribuídas a infecções bacterianas, levando à aplicação de uma terapêutica transviada que acarreta custos económicos acrescidos desnecessários (O'Hara e Kennedy, 1991).

### 4. Tratamento, profilaxia e controlo

As medidas terapêuticas aplicadas na thelaziose bovina incluem a extracção manual dos nemátodes adultos, com o auxílio de um cotonete ou pinça. Após remoção dos parasitas será vantajoso irrigar o saco conjuntival com soro fisiológico morno ou uma variedade de outras soluções, incluindo 50 a 75 ml de solução aquosa de iodo a 0,5% e iodeto de potássio 0,75% (Euzéby, 1961; Soll *et al.*, 1992; Aiello e Moses, 2012).

No entanto, com o advento de anti-helmínticos de grande eficácia, as prática supracitadas tem vindo a entrar em desuso (Urquhart *et al.*, 1998). A administração sistémica de levamisol

(5mg/kg, SC), doramectina (200 µg/kg, SC ou IM), tetramisol (12,5 a 15 mg/kg, SC) e ivermectina (200 µg/kg, SC ou IM) demonstram atingir concentrações no fluido lacrimal e conjuntiva de bovinos com eficácia superior a 95% contra a thelaziose. O género *Thelazia* é ainda susceptível à aplicação tópica de levamisol 1% em solução aquosa no saco conjuntival (Soll *et al.*, 1992; Kennedy e Phillips, 1993; Bowman, 1999). Formulações em Pour On de ivermectina ou doramectina, administradas de forma a atingir concentrações de 0,5 mg/kg, são igualmente eficazes na eliminação de nemátodes do olho de HD (Kennedy *et al.*, 1994; Marley *et al.*, 1999).

Naturalmente deverão ser realizados ajustes apropriados à terapêutica implementada para animais com sinais clínicos de conjuntivite e queratite (Euzéby, 1961). O uso concomitante de pomadas antibióticas e esteróides contra a inflamação e agentes secundários é recomendado (Aiello e Moses, 2012).

Apesar da elevada eficácia dos endectocidas supracitados no tratamento de animais infectados, a protecção residual conferida pelos mesmos não permite o controlo da parasitose a longo prazo. Os autores Soll *et al.* (1992) chamam a atenção para este facto, uma vez que reavaliações de animais tratados indicam uma protecção residual contra reinfeção por *Thelazia* spp. pouco superior a uma semana. Por outro lado, a utilização de endectocidas pode ainda influenciar indirectamente a prevalência de *Thelazia* spp.. Uma vez que a presença de resíduos de doramectina, eprinomectina, ivermectina e moxidectina no esterco de bovinos exhibe actividade larvicida contra espécies *Musca*, pode ocorrer uma diminuição da população de muscídeos e por conseguinte da transmissão por estes vectores (Floate, 2001).

Como ocorre noutras parasitoses transmitidas por insectos vectores, o controlo de muscídeos HI de *Thelazia* spp. deve ser parte integral de qualquer programa de controlo (Soll *et al.*, 1992). Os principais métodos convencionais de controlo de muscídeos desenvolvidos para bovinos implicam a utilização de adulticidas, armadilhas e larvicidas. A pulverização regular de paddocks e estábulos com insecticidas fornece um bom controlo de moscas e outros insectos voadores, se forem aplicadas medidas para minimizar os locais de deposição de ovos disponíveis para estes insectos. Os sprays ambientais, armadilhas com insecticidas e tiras de resina insecticida oferecem um controlo adicional.

Na pastagem o controlo de moscas da face é complicado pela área preferencial de alimentação no animal, a face, que é difícil de controlar e um tempo de permanência no animal muito curto. Ao contrário da mosca dos cornos (*Haematobia irritans*) que é maioritariamente atraída por animais adultos, a mosca da face procura tanto bovinos adultos como bezerros, pelo que os bezerros deverão também ser protegidos. A terapêutica é em geral conseguida com a aplicação de equipamentos de auto-tratamento, como brincos auriculares impregnados com

insecticida ou similares, que permitem uma libertação contínua e controlada de substâncias contra muscídeos. A incorporação de aditivos alimentares larvicidas na forma de blocos de minerais ou adicionados aos alimentos é outra hipótese, ao permitir a libertação do larvicida no estrume dos animais. Desta forma previne-se o crescimento das larvas de muscídeos coprófilos, reduzindo o número de moscas emergentes do esterco (Campbell, 1994; Bowman, 1999).

Estes métodos aplicados experimentalmente em rebanhos, de forma isolada ou em combinações, permitem em geral um controlo de 50% da população muscídea. Vários factores concorrem para um tal nível de controlo. Como já foi referido, as moscas despendem pouco tempo na face dos bovinos para se alimentarem, pelo que o tempo de exposição a insecticidas tópicos é curto. Por outro lado, os muscídeos apresentam uma elevada capacidade reprodutiva que leva a uma sobreposição de gerações durante a época reprodutiva, pelo que moscas eliminadas por armadilhas e adulticidas são rapidamente substituídas por uma nova geração. Finalmente, a mobilidade de muscídeos adultos será também um factor a considerar, pois o controlo da população muscídea local pode ser contrabalançado pela imigração de moscas de rebanhos vizinhos não tratados. A natureza ubiqüitária destes muscídeos dificulta assim o seu controlo e, por conseguinte, a prevenção da transmissão de *Thelazia* spp. em bovinos (Krafsur e Moon, 1997; Urquhart *et al.*, 1998).

## **5. Thelaziose humana**

A thelaziose humana ainda é pouco relatada a nível mundial, em parte devido aos sinais clínicos inespecíficos de resposta inflamatória que muitas vezes se assemelham a uma conjuntivite alérgica (Otranto e Dutto, 2008). Encontram-se relatadas em humanos duas espécies do género *Thelazia*, *T. callipaeda* Railliet e Henry, 1910 e *T. californiensis* Price, 1930 (Roberts e Janovy, 2009). A primeira espécie, *T. callipaeda*, parasita a cavidade orbital e tecidos associados de humanos, canídeos, felídeos e coelhos (Anderson, 2000). Trata-se de uma parasitose endémica em comunidades pobres Asiáticas, especialmente na China onde é frequentemente documentada em humanos com sintomas clínicos oculares ligeiros a graves, como lacrimação, epífora, conjuntivite, queratite e ulceração corneal. Ocorre maioritariamente em comunidades rurais com más condições de vida, especialmente em idosos e crianças (Otranto e Dutto, 2008). A *T. californiensis* parasita principalmente canídeos, em menor grau ovelhas, veados, coiotes, felídeos, ursos e raramente humanos. A sua ocorrência é relatada apenas na América do Norte, onde as infecções em humanos têm ocorrido na sua maioria na Califórnia (Anderson, 2000). O ciclo de vida é similar às espécies que parasitam bovinos, com a actuação de um hospedeiro intermediário vector. Vários muscídeos já foram indicados como

apropriados a este papel, como *Fannia benjamini*, *Fannia canicularis*, *Amiota okadai* e *Amiota variegata* (Otranto e Traversa, 2005).

Recentemente foi descrita thelaziose humana por *T. callipaeda* em Itália e França, com uma localização coincidente a áreas de thelaziose canina confirmada. Investigações moleculares demonstram a existência de apenas um haplótipo a circular em animais de estimação da Europa. Tal indicia o potencial metazoonótico de infecção pelo género *Thelazia* e por conseguinte a importância de tratar animais infectados, prováveis reservatórios de infecção para a thelaziose humana (Otranto e Dutto, 2008).

## Capítulo 3 – Estudo epidemiológico de thelaziose bovina na região do Alentejo.

### I - Análise da prevalência e importância clínica de *Thelazia* spp.

“Representar conhecimento sobre o mundo é tornar explícitos alguns dos seus aspectos, ignorando outros.” – Freksa (1996)

#### 1. Introdução

O reconhecimento da existência do género *Thelazia* em bovinos no Sul de Portugal aliado à literatura científica disponível no âmbito da thelaziose bovina, em especial quanto à sua distribuição na Europa, possibilitaram questionar a situação actual desta parasitose no país. Foi assim proposto, implementado e desenvolvido um estudo que visou a caracterização epidemiológica da ocorrência de thelaziose bovina na região do Alentejo, e aprofundar e esclarecer os seguintes objectivos:

- Aferir a existência de associação entre presença do parasita e lesões oculares;
- Determinar a prevalência de *Thelazia* spp. em bovinos na região do Alentejo;
- Monitorizar variações sazonais na prevalência de *Thelazia* spp. em bovinos, de Novembro de 2011 a Maio de 2012.
- Determinar quais as espécies de *Thelazia* presentes em bovinos nesta região e qual a sua morfologia;

Neste sentido, a linha de investigação implementada teve por finalidade permitir o acesso a um grande número de animais pertencentes à região em estudo. A pesquisa em matadouro mostrou-se a melhor opção ao permitir um exame ocular de fácil execução, bem como a colheita de parasitas para observação em laboratório. Além disso, o Sistema Nacional de Informação e Registo Animal (SNIRA), ao estabelecer regras para a identificação, registo e circulação das espécies bovina, ovina, caprina, suína e equina, possibilita o acesso a informação epidemiológica fidedigna em tempo útil. O SNIRA estabelece uma base de dados informatizada com informação individual dos animais e das suas movimentações para a exploração e a partir desta, determinando ainda que os bovinos destinados a abate devem circular acompanhados por uma Declaração de deslocação, Guia de circulação e Passaporte (Decreto-Lei nº 142/2006).

As expectativas do presente estudo estão em linha com investigações no mesmo âmbito (Kennedy *et al.*, 1990; Van Aken *et al.*, 1996; Tweedle *et al.*, 2005), em que foi determinada

uma variação sazonal da prevalência de *Thelazia* spp. em bovinos, para além de uma associação entre infecção e características individuais dos animais (sexo, idade, raça). Contudo, a autora esperou conseguir resultados mais claros quanto à associação entre thelaziose e lesões oculares. A caracterização dos nemátodes colhidos foi importante na determinação das espécies presentes em Portugal e eventual associação com a sua localização ocular, como é sugerido por Kennedy e MacKinnon (1994).

Como Vieira *et al.* (2012) referem, abordar as lacunas no conhecimento ajudará a definir áreas endémicas e permitir o estabelecimento de medidas profiláticas e terapêuticas mais efectivas contra a thelaziose ocular.

## **2. Material e métodos**

### **2.1 Recolha de dados**

A pesquisa de nemátodes oculares foi conduzida entre 15 de Novembro de 2011 e 25 de Maio de 2012 no Matadouro Regional de Alto Alentejo SA, Sousel, no distrito de Portalegre. Durante este período foram examinados uma vez por semana entre 5 e 69 bovinos (média de 32 animais), através de um exame ocular *post mortem*. No total foram avaliados ambos olhos de 571 bovinos presentes nesta Unidade Industrial.

O exame ocular foi realizado imediatamente após a morte do animal, com uma cadência média de 25 animais por hora, após ocorrer a sangria, estimulação eléctrica, recolha do(s) brinco(s), esfola e extracção da cabeça da carcaça do bovino. A técnica utilizada no exame ocular consistiu numa adaptação do método usado por Kennedy e MacKinnon (1994):

- Exame visual da superfície conjuntival, córnea e pêlos em redor do olho para pesquisa de parasitas e lesões oculares;
- Incisão do canto lateral do olho, seguido de lavagem com solução aquosa do globo ocular, saco conjuntival e área sob a membrana nictitante;
- Elevação com pinça dentes-de-rato da membrana nictitante e aplicação de pressão digital na base do ducto lacrimal da glândula Harderiana;
- Introdução de solução aquosa nos principais ductos da glândula Harderiana e Lacrimal através de uma agulha romba de 21G acoplada a uma seringa de 20ml (Fig. 23 e 24 em anexo);
- Colheita com pinça bico-de-pato para álcool etílico a 70% de parasitas adultos, contagem seguida de registo segundo a sua localização e presença ou ausência de lesões (Fig. 25 em anexo);
- Excisão e congelação dos olhos e tecidos acessórios de animais parasitados para posterior estudo (incisão do canal nasolacrimal, glândula Lacrimal e Harderiana).



Durante o exame ocular as cabeças foram numeradas segundo a sequência de apresentação na linha de abate, com um lápis de cor. Posteriormente foram consultadas as listagens contendo a ordem de abate dos bovinos, bem como as respectivas Declarações de deslocação (Fig. 28 em anexo), Guias de circulação, Passaportes (Fig. 26 e 27 em anexo) e Fichas de recepção de bovinos, sendo registado para cada animal: a data de abate, a data de nascimento, a idade à data de abate, o sexo, a raça, o sistema de produção, o nome e morada da exploração (ver Tabela 8).

**Tabela 8: Dados individuais de bovinos recolhidos a partir da Declaração de deslocação, Guia de circulação, Passaporte e Ficha de recepção de bovinos.**

	Declaração de deslocação	Guia de circulação	Passaporte	Ficha de recepção de bovinos
Data de nascimento	-	-	X	X
Idade	-	-	-	X
Sexo	-	-	X	X
Raça	-	-	X	X
Sistema de produção	-	X	-	-
Nome e morada da exploração	X	X	X	X

Os animais em estudo foram agrupados em quatro grupos etários (Tabela 9), segundo uma adaptação da Norma Portuguesa 776 de 1983, que classifica ungulados domésticos conforme a sua idade.

**Tabela 9: Descrição de grupos etários.**  
(Adaptado de Norma Portuguesa 776 de 1983)

Grupo etário	Descrição
Vitela comum	Cria com o cordão umbilical cicatrizado, macho ou fêmea, com idade inferior a 6 meses
Vitelão	Macho ou fêmea com idade entre 6 meses e 11 meses
Novilho(a)	Macho ou fêmea com idade entre 12 meses e 35 meses
Bovino adulto	Macho ou fêmea com idade igual ou superior a 36 meses

## 2.2 Processamento laboratorial dos nemátodes

A observação dos nemátodes recolhidos e sua identificação quanto à espécie de *Thelazia* foi realizada no Laboratório de Parasitologia Victor Caeiro da Universidade de Évora, segundo a seguinte técnica:

- Observação de cada exemplar com um estereomicroscópio e medição do seu comprimento com o auxílio de uma régua de 15 cm;

- Montagem entre lâmina e lamela com Lactofenol d'Amann;
- Observação e medição de características morfológicas ao microscópio óptico, numa ampliação de x100 (ocular de x10 e objectiva de x10) e de x400 (ocular de x10 e objectiva de x40).

Inicialmente a técnica supracitada foi executada para nemátodes recolhidos e conservados directamente em álcool etílico a 70%. Contudo, rapidamente se tornou claro que a colheita destes parasitas vivos para álcool etílico a 70% não era vantajosa. Os nemátodes apresentavam-se à observação microscópica muito retraídos o que dificultava o esclarecimento pelo Lactofenol d'Amann e, por conseguinte, o reconhecimento de estruturas necessárias à identificação da espécie de *Thelazia*. Como alternativa os nemátodes passaram a ser colhidos e colocados em soro fisiológico, e passadas seis horas estes eram transferidos para álcool etílico a 70% para conservação, com melhoria notória dos resultados.

Os nemátodes foram observados com o estereomicroscópio Wild® M8 do Laboratório de Parasitologia da Universidade de Évora. As lâminas foram observadas no microscópio óptico Olympus® CX41 e as mensurações realizadas com uma ocular micrométrica de 6x, cujos factores de calibração são enumerados na Tabela 10. As mensurações do presente trabalho são apresentadas em micrómetros (µm), tendo sido obtidas pela multiplicação do número de divisões da ocular micrométrica sobrepostas ao espécimen, com o factor de calibração correspondente à objectiva utilizada.

Tabela 10: Factores de calibração	
Objectiva	Factor de calibração
10x	14,63
40x	3,66

Quanto às fotografias presentes nesta monografia, estas foram obtidas com a câmara digital Olympus® DP20, acoplada ao microscópio Olympus® BX41.

Os nemátodes colhidos foram identificados até ao género segundo a seguinte chave dicotómica (Railliet, 1916):

1. Espículas iguais.....*Galeiceps*  
Espículas desiguais.....2
2. Boca provida de dentes ou lábios.....3  
Boca sem lábios.....5
3. Boca com seis pequenos lábios papiliformes.....*Serticeps*  
Boca com dois lábios ou dentes.....4
4. Extremidade anterior ornamentada com lobos cuticulares.....*Schistorophus*  
Extremidade anterior nua.....*Rhabdochona*

5. Macho com asas caudais.....6
  - Macho sem bursa, capsula bucal curta.....7
6. Vestíbulo alongado, papilas pré-anais desenvolvidas.....*Cystidicola*
  - Capsula bucal curta, papilas pré-anais simples.....*Ceratospira*
7. Cauda obtusa, arredondada; vulva anterior.....*Thelazia*
  - Cauda pontiaguda, oxiuriforme; vulva posterior.....*Oxyspirura*

A identificação de espécies de *Thelazia* foi realizada segundo chaves morfológicas já mencionadas nesta monografia (Gorgot, 1947; Gupta e Kalia, 1978; Naem, 2007a, b e c). Para tal foram mensuradas características específicas dos nemátodes, descritas na Tabela 11.

**Tabela 11: Descrição de características morfológicas mensuradas.**

<b>Característica</b>	<b>Descrição</b>
Comprimento (mm)	Distância entre a extremidade anterior e a extremidade posterior do nemátode, em milímetros
Largura	Dimensão transversal no centro do corpo, em $\mu\text{m}$
Largura da abertura bucal	Distância entre o limite interno dos lábios, em $\mu\text{m}$
Papilas cervicais	Distância entre as papilas cervicais e a extremidade anterior, em $\mu\text{m}$
Comprimento do esôfago	Distância entre a extremidade posterior do esôfago e a extremidade anterior do nemátode, em $\mu\text{m}$
Vulva	Distância entre a vulva e a extremidade anterior, em $\mu\text{m}$
Padrão em redor da vulva	Presença ou não de padrão cuticular em redor da vulva característico de <i>T. rhodesi</i>
Poro anal	Distância entre o poro anal e a extremidade posterior, em $\mu\text{m}$
Dois fasmídeos	Presença ou não de dois fasmídeos na extremidade posterior
Banda de estriação anterior	Distância longitudinal entre duas estrias contíguas da cutícula no extremo anterior, em $\mu\text{m}$
Banda de estriação média	Distância longitudinal entre duas estrias contíguas da cutícula na zona média do corpo, em $\mu\text{m}$
Banda de estriação posterior	Distância longitudinal entre duas estrias contíguas da cutícula no extremo posterior, em $\mu\text{m}$
Espícula menor	Comprimento da espícula menor, em $\mu\text{m}$
Espícula maior	Comprimento da espícula maior, em $\mu\text{m}$
Pares papilas pré-anais	Número de pares de papilas pré-anais
Pares papilas pós-anais	Número de pares de papilas pós-anais

## 2.3 Análise estatística

Os dados obtidos foram sistematicamente registados numa base de dados desenvolvida no Software Microsoft Office Excel 2007<sup>®</sup>. Posteriormente, estes foram subdivididos segundo três categorias: dados individuais de bovinos, dados das explorações e dados laboratoriais. A gestão e processamento dos mesmos foram realizadas com o auxílio do Software R<sup>®</sup> versão 2.15.1 desenvolvido pela R Foundation for Statistical Computing, disponível online. Neste programa procedeu-se ao cálculo de Intervalos de Confiança (IC) de 95% com o auxílio da estimativa de Blaker.

Os termos prevalência e intensidade média estão de acordo com as definições de Margolis *et al.* (1982), citados por Kennedy *et al.* (1990, p. 197), em que a prevalência é o número de indivíduos de uma espécie hospedeira infectada com uma determinada espécie parasitária dividido pelo número de hospedeiros examinados. A intensidade média define-se como o número de indivíduos de uma determinada espécie parasitária numa amostra de uma espécie hospedeira dividido pelo número de indivíduos infectados da espécie hospedeira na amostra.

Inicialmente foi realizada uma análise descritiva dos dados individuais obtidos em matadouro, seguindo-se uma análise inferencial com o “Teste de Qui-quadrado de Pearson” aplicado a tabelas de contingência de duas entradas, considerando um nível de significância de 5%. A representação gráfica foi gerada no Software Microsoft Office Excel 2003.

As medições das características morfológicas obtidas no Laboratório de Parasitologia foram subdivididas segundo o sexo dos nemátodes e posteriormente descritas estatisticamente. Ademais, foi compilada uma tabela de contingência de duas entradas com as variáveis espécie de *Thelazia* e localização do nemátode, seguido de um “Teste de Qui-quadrado de Pearson”, cujo nível de significância utilizado foi de 5%.

## 3. Resultados

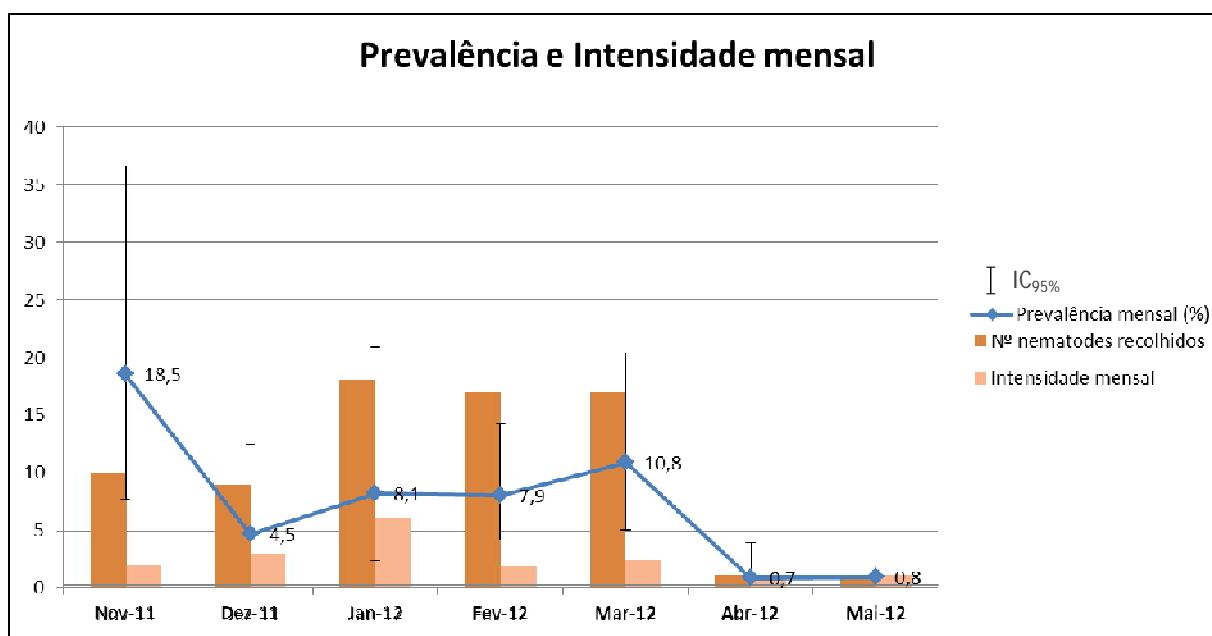
### 3.1 Prevalência e intensidade sazonal

A prevalência de infecção por *Thelazia* spp. foi de 5,1% (n=29), relativamente aos 571 bovinos examinados, sendo que os bovinos parasitados encontram-se sumariamente descritos em anexo, na Tabela 22. Na maioria dos animais a infecção foi unilateral (72,4%, n=21), sendo que destes 47,6% (n=10) foram relativas ao olho esquerdo, enquanto 52,4% (n=11) relativas ao olho direito. A prevalência mensal de infecção e distribuição unilateral ou bilateral de nemátodes de *Thelazia* são apresentados na Tabela 12.

**Tabela 12: Prevalência mensal de *Thelazia* spp. e intensidade de infecção em bovinos do Matadouro de Sousel (Novembro de 2011 a Maio de 2012).**

Mês	Nº animais examinados	Animais positivos			Prev. (%) de animais infectados	
		n	Prev. (%)	IC 95%	unilateral	bilateral
<b>Novembro 2011</b>	27	5	18,5	7,6 – 36,7	60	40
<b>Dezembro 2011</b>	66	3	4,5	1,2 – 12,4	66,7	33,3
<b>Janeiro 2012</b>	37	3	8,1	2,2 – 20,9	33,3	66,7
<b>Fevereiro 2012</b>	114	9	7,9	4,0 – 14,2	88,9	11,1
<b>Março 2012</b>	65	7	10,8	4,9 – 20,4	71,4	28,6
<b>Abril 2012</b>	135	1	0,7	0,03 – 3,8	100	0
<b>Maio 2012</b>	127	1	0,8	0,04 – 4,0	100	0
<b>Total</b>	571	29	5,1	3,4 – 7,2	72,4	27,6

Apesar de não existirem dados relativos a todo o trimestre do Outono, verifica-se uma prevalência superior no final desta estação comparativamente ao Inverno e particularmente à Primavera. Por conseguinte, é evidente uma tendência na distribuição de valores, com um número de infecções elevado no mês de Novembro e reduzido de Abril a Maio (Gráfico 1). Uma tendência confirmada pela existência de associação estatística entre o mês e a ocorrência de infecção ( $p < 0,001$ ).



**Gráfico 1: Prevalência e intensidade mensal de infecção por *Thelazia* spp.**

Uma proporção considerável dos animais infectados (51,7% com  $IC_{95\%} = 33,9 - 69,5$ ;  $n=15$ ) apresentava apenas um único nemátode. A intensidade de infecção média da população foi de 2,5 nemátodes por animal infectado. Enquanto mensalmente verifica-se que nos meses de

Dezembro e Janeiro a intensidade de infecção foi superior à intensidade média do período de estudo. Coincidentemente nos meses de Dezembro, Janeiro e Fevereiro foram encontrados animais parasitados com um máximo de 7 nemátodes.

### 3.2 Prevalência associada a sexo, grupo etário e raça

A repartição por sexo dos bovinos examinados foi relativamente homogénea, tal como a prevalência de animais infectados entre bovinos machos e fêmeas (Gráfico 2). Não tendo sido identificada qualquer associação estatística entre a presença do parasita e o sexo do animal ( $p=0,3871$ ).

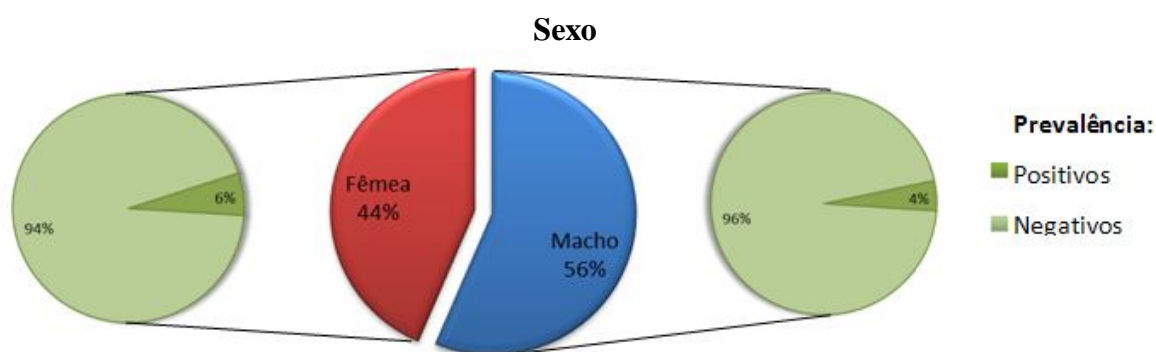


Gráfico 2: Relação entre o sexo dos bovinos e a prevalência de *Thelazia* spp.

Contudo, a prevalência de *Thelazia* spp. variou com a idade do hospedeiro, com mais animais infectados nos grupos etários vitelo, novilhos e bovinos adultos ( $p<0.001$ ). Apesar de apresentar uma prevalência de infecção notável, deve ser tido em conta que o grupo etário vitelo representa uma fracção muito reduzida da população amostrada (0,9%), evidente na Tabela 13. A idade média da população total de bovinos ( $n=571$ ) foi 23,4 meses, sendo 5 meses a idade mínima e 208 meses a idade máxima. Ponderando apenas os animais positivos para *Thelazia* spp. ( $n=29$ ) a idade mínima foi de 5 meses e a máxima de 196 meses. Quanto à idade média de animais infectados para cada grupo etário observa-se: para vitelos 5 meses, vitelões 7,3 meses, para novilhos 15 meses e para bovinos adultos 150,8 meses.

A respeito das raças dos animais amostrados, verifica-se que as raças Blonde D'Aquitaine, Frísia, Brava, Mertolenga e Limousine estavam pouco representadas na população em estudo, pelo que foram reunidas num grupo denominado Outras (Tabela 13). Os bovinos amostrados pertenciam na sua maioria à raça Cruzada, representando 75,8% da população ( $n=433$ ). Os animais infectados pertenciam à raça Cruzada e Alentejana, não existindo associação entre as variáveis raça e infecção ( $p=0,7401$ ).

**Tabela 13: Número e proporção de bovinos positivos a *Thelazia* agrupados de acordo com o sexo, grupo etário e raça.**

	Positivos			Total	
	Número	Percentagem (%)	IC 95%	Número	Frequência relativa (%)
Bovinos	29	5,1	3,4 – 7,2	571	-
Sexo					
Macho	14	4,4	2,5 – 7,2	320	56
Fêmea	15	6,0	3,4 – 9,6	251	44
Grupo etário					
Vitelo	1	20,0	1,0 – 65,7	5	0,9
Vitelão	6	1,7	0,08 – 3,7	344	60,2
Novilho(a)	14	9,2	5,4 – 14,9	152	26,6
Bovino adulto	8	11,4	5,0 – 21,1	70	12,3
Raça					
Cruzada	23	5,3	3,5 – 7,8	433	75,8
Alentejana	6	8,3	3,7 – 17,0	72	12,6
Mirandesa	0	0	0 – 8,8	36	6,3
Outra	0	0	0 – 10,6	30	5,3

### 3.3 Descrição de lesões oculares

Foram observadas lesões oculares em 25 bovinos, representando 4,4% (IC<sub>95%</sub>=2,9 – 6,3) da população amostrada (Tabela 14). O lacrimejar, ulceração e opacidade corneal foram as alterações mais comumente observadas (3,5%), enquanto conjuntivites foram mais raras (0,9%). A incidência de lesões oculares em animais infectados foi 3,4% (n=1) e em animais não infectados foi 4,4% (n=24). Dos 25 animais com lesões evidentes, apenas 4% (n=1) se encontravam infectados com *Thelazia* spp.. O único animal infectado com lesões oculares foi apresentado a exame em Janeiro, demonstrando uma infecção bilateral em que foram recolhidos no total 7 nemátodes do saco conjuntival e sob a membrana nictitante. Não obstante, a lesão era unilateral consistindo de edema conjuntival da pálpebra inferior esquerda.

**Tabela 14: Relação entre presença de *Thelazia* spp. e lesões oculares em bovinos.**

Lesões oculares	<i>Thelazia</i> presente			<i>Thelazia</i> ausente			Total	
	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	n	%
Lacrimejar	0	0	0 – 0,6	10	1,75	0,9 – 3,2	10	1,75
Ulceração, opacidade corneal	0	0	0 – 0,6	10	1,75	0,9 – 3,2	10	1,75
Conjuntivite	1	0,2	0 – 1,0	4	0,7	0,2 – 1,8	5	0,9
Sem lesões	28	4,9	3,3 – 6,9	518	90,7	88,1 – 92,9	546	95,6
Total	29	5,1	3,4 – 7,2	542	94,9	92,8 – 96,6	571	100

A análise estatística inferencial permite afirmar que a ocorrência de lesões oculares não se encontra associação à presença de *Thelazia* ( $p=0,496$ ), nem à idade dos animais ( $p=0,131$ ). Contudo, verifica-se uma associação entre a presença de lesões oculares e o mês de exame ( $p=0,007$ ), como aliás é evidenciado no Gráfico 3.

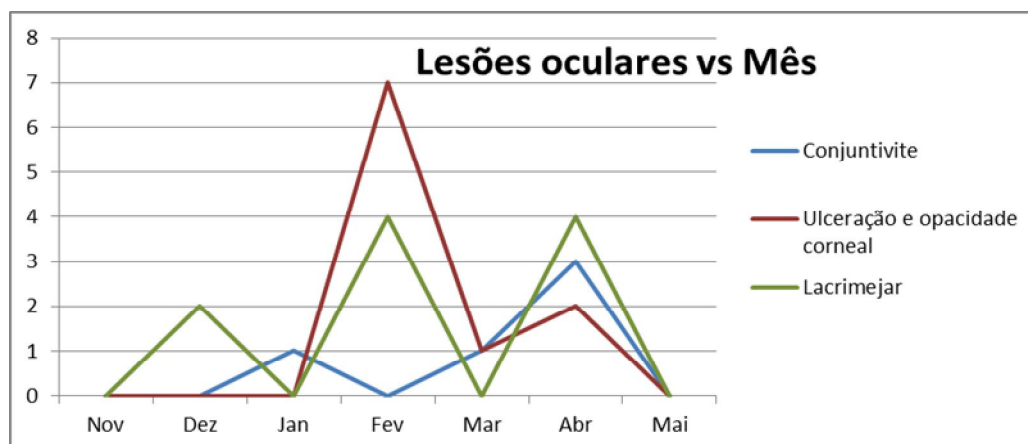


Gráfico 3: Distribuição mensal de lesões oculares.

### 3.4 Caracterização de *Thelazia* spp.

Considerando cada olho como uma unidade amostral, foram observados parasitas do género *Thelazia* em 3,2% ( $n=37$ ) dos 1142 olhos de bovinos examinados, com um  $IC_{95\%}=2,3 - 4,4$ . No total foram colhidos 73 nemátodes, contudo, devido a constrangimentos diversos apenas 66 nemátodes foram examinados em laboratório. Portanto de agora em diante todos os valores apresentados serão relativos aos 66 nemátodes supracitados.

Não foi possível identificar o sexo de dois nemátodes, quanto aos restantes foram identificados 19 machos adultos (28,8%,  $IC_{95\%}=18,5 - 40,8$ ) e 45 fêmeas adultas (68,2%,  $IC_{95\%}=56,1 - 78,6$ ). O rácio macho:fêmea pende a favor dos nemátodes fêmea, sendo aproximadamente 1:2. De entre as fêmeas colectadas, grande parte encontrava-se reprodutivamente activa, tendo sido observados ovos embrionados no seu interior e larvas individualizadas (Fig. 14 e 15).

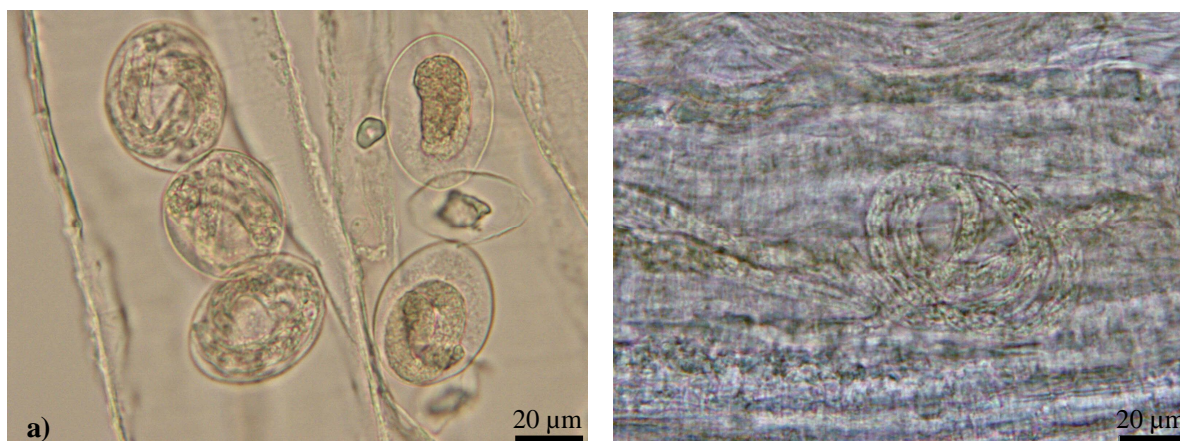
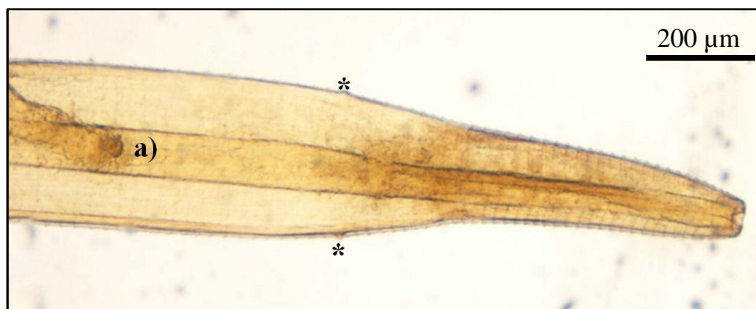


Figura 14: Nemátode fêmea do género *Thelazia*.

a) Ovos embrionados no interior do útero; b) larvas L1 individualizadas.



A maioria dos nemátodes foram identificados como *Thelazia rhodesi* Desmarest, 1822 (93,9% com  $IC_{95\%}=85,3 - 97,9$ ;  $n=62$ ), para os restantes nemátodes não foi possível determinar com certeza a espécie (6,1% com  $IC_{95\%}=2,1 - 14,7$ ;  $n=4$ ). Desta forma, a espécie *T. rhodesi* foi encontrada em 27 animais (93,1%,  $IC_{95\%}=78,4 - 98,8$ ), sendo que dois nemátodes não identificados ocorreram como infecção mista com *T. rhodesi* e os restantes dois nemátodes de forma independente.



**Figura 15: Extremidade anterior de fêmea da espécie *Thelazia rhodesi*.**

a) vulva;  
\*) papilas cervicais.

De seguida, são apresentadas as mensurações de características morfológicas obtidas para os nemátodes pertencentes à espécie *Thelazia rhodesi* (Tabela 15 complementada pela Fig. 16) e *Thelazia* spp. de espécie indeterminada (Tabela 16).

**Tabela 15: Mensurações de características morfológicas da espécie *Thelazia rhodesi*.**

<i>T. rhodesi</i> (μm)	Macho		Fêmea	
	Média	min-máx	Média	min-máx
Comprimento (mm)	12,11	9 – 15	15,94	12 – 21
Largura	410,9	308,4 – 497,4	451	321,9 – 512
Largura da abertura bucal	21,57	18,3 – 25,62	24,26	16,47 – 29,28
Papilas cervicais	663,3	555,9 – 746,1	710,9	614,5 – 936,3
Comprimento do esófago	596,8	541,3 – 680,3	658,6	555,9 – 731,5
Vulva	-	-	1002	760,8 – 1287,4
Padrão em redor da vulva	-	-		Sim
Poros anal	-	-	83,53	73,2 – 98,82
Dois fasmídeos		Sim		Sim
Banda de estriação anterior	16,28	10,98 – 21,96	16,77	10,98 – 25,62
Banda de estriação média	23,69	18,3 – 29,28	24,43	18,3 – 36,6
Banda de estriação posterior	33,23	21,96 – 43,92	32,68	21,96 – 51,24
Espícula menor	131,37	98,82 – 150,06	-	-
Espícula maior	708,2	585,6 – 830,8	-	-
Pares papilas pré-anais	11,57	10 – 13	-	-
Pares papilas pós-anais		1	-	-



**Figura 16: Extremidade posterior de macho *T. rhodesi*.**




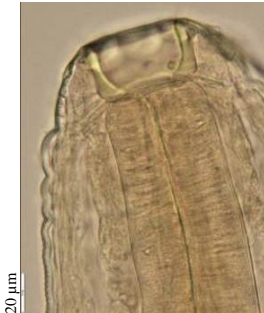



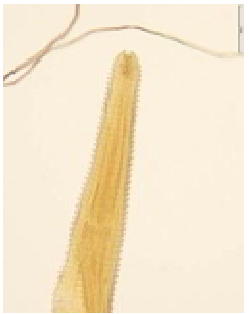
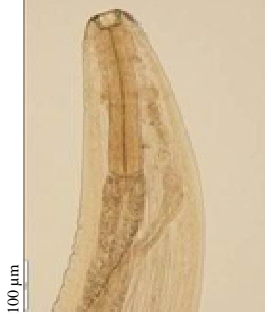


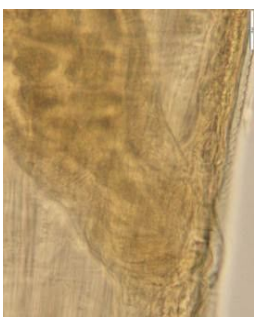




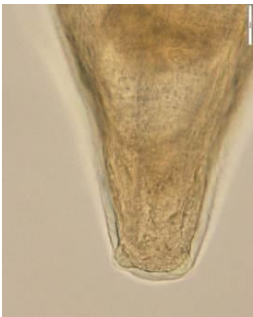



- a) curvatura ventral da cauda evidente;  
b) pormenor das espículas;  
c) pormenor das papilas pré-anais.

**Tabela 16: Mensurações de características morfológicas de nemátodes de espécie indeterminada.**

<i>Thelazia</i> spp. (µm)	Indivíduo 1	Indivíduo 2	Indivíduo 3	Indivíduo 4
Comprimento (mm)	17	8	8	11
Largura	555,94	219,45	468,16	219,45
Largura da abertura bucal	62,22	10,98	42,09	14,64
Papilas cervicais	ND	ND	ND	ND
Comprimento do esófago	380,38	387,7	351,12	ND
Vulva	672,98	ND	409,64	ND
Padrão em redor da vulva	Não	ND	Não	ND
Poros anal	64,05	ND	ND	ND
Dois fasmídeos	Sim	Sim	Sim	ND
Banda de estriação anterior	Não	14,64	Não	Não
Banda de estriação média	Não	14,64	Não	Não
Banda de estriação posterior	Não	ND	Não	Não
Espícula menor	-	-	-	-
Espícula maior	-	-	-	-
Pares papilas pré-anais	-	-	-	-
Pares papilas pós-anais	-	-	-	-

\*ND = Não Determinado

Tabela 17: Comparação de características morfológicas entre *T. rhodesi* e indivíduos de espécie indeterminada.

	<i>T. rhodesi</i>	Indivíduo 1	Indivíduo 2	Indivíduo 3	Indivíduo 4
Cápsula bucal					
Extremidade anterior					
Vulva					
Extremidade posterior					

A distribuição ocular dos nemátodes não demonstrou relação significativa com a espécie de *Thelazia* presente ( $p=0,869$ ). Todos os quatro nemátodes de espécie indeterminada foram colhidos sob a membrana nictitante. Quanto aos nemátodes da espécie *T. rhodesi*, estes foram colhidos da superfície corneal, do saco conjuntival e sob a membrana nictitante (Gráfico 4).

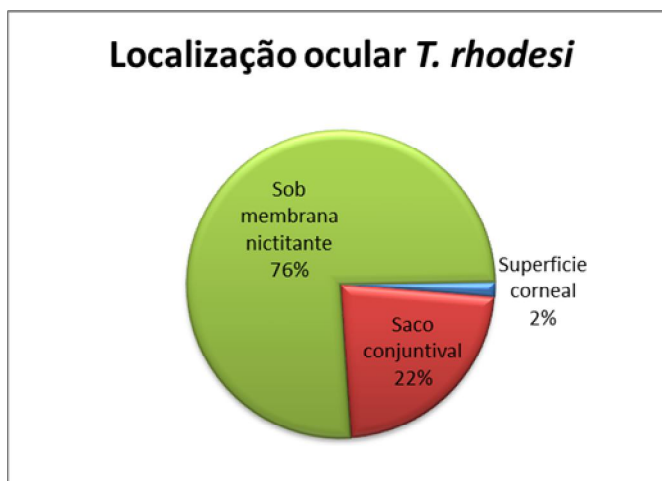


Gráfico 4: Distribuição ocular dos nemátodes da espécie *Thelazia rhodesi* recolhidos.

#### 4. Discussão

A maioria dos estudos epidemiológicos realizados no âmbito da thelaziose bovina têm por base pesquisas *post mortem* em matadouro, como é evidenciado na Tabela 6. Esta modalidade de investigação tem associada vantagens e desvantagens a considerar. As desvantagens são aparentes ao considerar o modo de “amostragem” dos indivíduos. A escolha dos animais ou lote de animais a enviar para abate é realizada pelo produtor, normalmente tendo em mente a obtenção da melhor margem de lucro possível. Neste sentido, em geral são apresentados em matadouro lotes homogêneos de animais jovens e saudáveis, os quais para além de serem pouco representativos do rebanho apresentam baixa probabilidade de infecção. No presente estudo foi confirmada esta propensão, uma vez que 61% dos animais apresentados tinha idade inferior a 11 meses e portanto uma probabilidade de infecção tendencialmente baixa (Ladouceur e Kazacos, 1981; Krafur e Church, 1985; Kennedy *et al.*, 1990). Para além do facto de não serem integrados dados individuais relativos a cada exploração no estudo epidemiológico da parasitose, como o manejo dos animais, a história pregressa da exploração, as medidas profiláticas aplicadas, entre outras.

Não obstante, as vantagens deste tipo de estudo são contundentes. Em primeiro lugar, uma Unidade Industrial do calibre do Matadouro Regional de Alto Alentejo SA, Sousel, no distrito de Portalegre permite o acesso a um elevado número de animais com uma considerável dispersão espacial na região Alentejana. Por outro lado, o exame *post mortem* é realizado

através da completa manipulação dos tecidos oculares o que permite uma fácil visualização e pesquisa de nemátodes nos ductos e glândulas oculares, processo pouco praticável num exame *in vivo*. Desta forma a prevalência de thelaziose individual, assim como os respectivos dados epidemiológicos individuais, são bastante fidedignos e de fácil acesso. Na opinião da autora e no contexto de dissertação de mestrado sem financiamentos externos, do qual este trabalho é um exemplo, a principal vantagem será a facilidade de execução com baixos custos associados e uma excelente relação resultado-tempo despendido.

#### **4.1 Prevalência e intensidade sazonal**

A detecção de bovinos parasitados por *Thelazia* spp., relatada no presente trabalho, confirma a ocorrência de thelaziose bovina em Portugal. No período de estudo foi determinada uma prevalência de 5,1% em bovinos parasitados na região do Alentejo. Este valor é inferior à prevalência de thelaziose relatada em Itália (7,2%, n=55) e nas Filipinas (23%, n=149) por Giangaspero *et al.* (2000) e Aken *et al.* (1996), respectivamente.

A análise da prevalência mensal revela uma variação expressiva, indicativa de que a presença da parasitose em Portugal não é um evento esporádico. Mas sim, encontra-se bem estabelecida no país, apresentando inclusive características de sazonalidade que parecem acompanhar o ciclo biológico de potenciais vectores muscídeos. O período de estudo decorreu ao longo de três estações do ano: final de Outono (Novembro), Inverno (Dezembro a Fevereiro) e Primavera (Março a Maio). Segundo a bibliografia consultada seria de esperar neste período um declínio na incidência de infecção devido à morte de nemátodes adultos no HD e hibernação dos vectores, com consequente cessação da transmissão (Klesov, 1953; Krafur e Moon, 1997). Os resultados obtidos confirmam as expectativas supracitadas, aliás, os valores obtidos no presente estudo seguem a mesma tendência que os valores de prevalência mensal obtidos por Kennedy *et al.* (1990) em bovinos de carne durante um ano. Similarmente a prevalência mínima foi alcançada na Primavera, com valores mínimos de 0,7% e 0,8% em Abril e Maio, respectivamente. Todavia, estes autores obtiveram uma prevalência máxima no início do Outono (Setembro), enquanto no presente estudo o valor máximo foi obtido em Novembro, no final do Outono. A comparação de dados sugere uma elevada possibilidade de a prevalência de infecção em Setembro e Outubro ter sido superior aos 18,5% determinados para Novembro. O que a ser verdade tem implicações na prevalência total de thelaziose bovina em Portugal, sugerindo que o valor de 5,1% possa estar subestimado.

Quanto à intensidade de infecção, comparativamente a estudos similares dos últimos 40 anos (Tabela 6), verifica-se que a intensidade média de 2,5 nemátodes por animal infectado está em concordância com o declínio documentado por outros autores. Segundo Tweedle *et al.* (2005),

esta tendência estará associada à utilização generalizada de endectocidas na produção de bovinos desde os anos 80. A ampla utilização de moléculas como ivermectina e doramectina na produção pecuária Portuguesa, de comprovada eficácia contra a thelaziose bovina, parece corroborar a sua influência na parasitose (Soll *et al.*, 1992; Kennedy e Phillips, 1993; Kennedy *et al.*, 1994; Marley *et al.*, 1999). Contudo, sem dados anteriores relativos à thelaziose bovina em Portugal é impossível afirmar com certeza se a prevalência do género *Thelazia* no país sempre foi baixa ou se é concordante com o declínio verificado nos últimos 40 anos. Apesar da quebra acentuada na prevalência de infecção verificada nos meses de Inverno (Dezembro, Janeiro e Fevereiro) comparativamente a Novembro, foram obtidos os valores máximos de intensidade de infecção neste período. Tal não parece concordar com os resultados de Kennedy *et al.* (1990), os quais encontraram um número superior de nemátodes em bovinos mais velhos no Verão que nas restantes estações do ano.

No presente estudo as infecções por *Thelazia* foram na sua maioria unilaterais (72,4%), todavia condicionantes do trabalho em matadouro levaram a autora a considerar cautelosamente este resultado. Como é referido o exame ocular ocorria anexamente à linha de abate, após a ocorrência de alguns procedimentos. Neste contexto a processo de esfolia do animal foi preocupante, uma vez que era realizada sempre pelo mesmo magarefe, o qual apresentava uma propensão para remover mais pele de um lado da cabeça que do outro. Assim, uma grande parte dos animais foram apresentados para exame com as pálpebras intactas no olho esquerdo e ausência das mesmas no olho direito (Fig. 22 em anexo). A problemática dever-se-ia à possível remoção de parasitas em simultâneo com as pálpebras do olho direito durante a esfolia, prenunciando assim que fosse subestimada a ocorrência de infecções bilaterais em favor das unilaterais. No entanto, se tal se verificasse seria de esperar uma tendência para infecções unilaterais do olho esquerdo, o que não ocorreu, pois a distribuição foi relativamente homogénica entre o olho esquerdo e direito (47,6% e 52,4%, respectivamente). Deste modo, é concluído que a esfolia dos animais terá tido uma influência irrelevante na detecção de infecção. No âmbito da distribuição uni e bilateral de *Thelazia* em olhos, os resultados de outros estudos são contraditórios quanto à aleatoriedade da infecção. Alguns afirmam que a distribuição do parasita não é aleatória (Arbuckle e Khalil, 1978; Kennedy *et al.*, 1990) pois detectaram mais infecções bilaterais que o esperado, enquanto outros (Krafsur e Church, 1985) demonstraram um risco de infecção idêntico em ambos os olhos. Não obstante, Krafsur e Church (1985) afirmam que se determinados bovinos estivessem em maior ou menos risco que a maioria, seria esperado um excesso de animais com infecção bilateral ou livres de nemátodes, respectivamente.

## **4.2 Prevalência associada a sexo, grupo etário e raça**

Tanto o sexo como a raça dos bovinos não demonstram associação significativa com a presença de *Thelazia* spp., como aliás já foi relatado em trabalhos prévios (Ladouceur e Kazacos, 1981). Em contrapartida, foi confirmada uma relação significativa entre o grupo etário dos bovinos e a probabilidade de infecção. Verifica-se que a prevalência de infecção em vitelos (idade inferior a 6 meses) foi muito elevada comparativamente às restantes classes etárias. Estes dados diferem de outros estudos epidemiológicos realizados, sendo provavelmente devidos ao diminuto número de amostras neste grupo etário (representando 0,9% da população total), patenteado numa grande variação do IC (entre 1,0% e 65,7%), pelo que a interpretação dos resultados para o grupo etário vitelos não é fidedigna. Quanto aos restantes resultados obtidos no presente trabalho, estes confirmam uma tendência de aumento da probabilidade de infecção com o aumento da idade do animal, à semelhança de outros estudos (Krafsur e Church, 1985; Kennedy *et al.*, 1990).

Os novilhos e bovinos adultos, de idades superiores a 12 meses, apresentam uma prevalência conjunta de 20,6% comparativamente a vitelões, de idade compreendida entre os 6 e 11 meses, com 1,7% de prevalência. Os grupos etários demonstrando uma prevalência máxima diferem de autor para autor, em que Aken *et al.* (1996) apontam uma taxa de infecção máxima em animais com mais de 36 meses, enquanto Arbuckle e Khalil (1978) apontam para idades entre 21 a 38 meses. Os resultados obtidos englobam ambos grupos etários referidos e estão de acordo com os postulados consensualmente aceites na comunidade científica, em que a maior prevalência de infecção é observada em adultos devido a: longo tempo de sobrevivência do parasita no HD, uma provável inexistência de uma resposta imunitária protectora, e à reinfecção do animal ao longo da sua vida (Otranto e Traversa, 2005).

## **4.3 Relação entre lesões oculares e thelaziose bovina**

A independência de lesões oculares em bovinos relativamente à presença de nemátodes do género *Thelazia* era expectável a vários níveis, de acordo com resultados da literatura referida na dissertação. Em primeiro lugar, é apontada uma correlação entre a época de actividade máxima de muscídeos e o surgimento de surtos de doença ocular devidos a nemátodes desta espécie (Kennedy *et al.*, 1990). Em França, tal implica o início de sinais clínicos em Junho, prolongando-se até Setembro e regredindo em Outubro para desaparecer no Inverno (Euzéby, 1961). Ora o período de investigação no presente trabalho ocorreu de Novembro a Maio, época com tendência para ausência de lesões oculares, todavia foi encontrado um animal infectado com lesões macroscópicas evidentes.

O sinal clínico lacrimejar apresenta uma interpretação pouco fidedigna, pois poderá encontrar-se subestimado ou sobrestimado. A determinação da existência ou ausência deste



sinal clínico foi realizada através de um exame *ante mortem* por observação dos animais na abegoaria. Contudo, não foi possível proceder a este exame para todos os animais amostrados, levando à sua possível subestimação. Em contrapartida, o próprio ambiente da abegoaria com algum grau de acumulação de gases e grande densidade de animais pode predispor ao aparecimento de lacrimejar agudo sem qualquer relação com a presença ou ausência de *Thelazia*, sendo assim sobrestimado.

Os 4,4% da população que demonstraram lesões macroscópicas não apresentaram associação com a idade dos mesmos, mas sim com o mês de colheita. Está patente um acréscimo de lesões no final do Inverno e Primavera, especialmente conjuntivites, ulceração e opacidade corneal. Estes dados são consistentes com um potencial início de actividade das moscas na Primavera, as quais podem provocar escarificação superficial enquanto se alimentam ou transmitir agentes patogénicos como a *Moraxella bovis* e a *Thelazia* spp. (Krafsur e Moon, 1997). Aliás a sobrevivência do nemátode adulto em bovinos varia entre 9 a 10 meses, sendo que a sua morte pode provocar infecções bacterianas secundárias, as quais associadas a trauma mecânico produzido por formas imaturas parecem coincidir com o aparecimento de conjuntivites (Petrov *et al.*, 1940; Moolenbeek e Surgeoner, 1980; O'Hara e Kennedy, 1991). Portanto, é possível especular no presente trabalho a eventual presença de formas imaturas de *Thelazia* na Primavera, não detectáveis a olho nu, associadas a um aumento de lesões macroscópicas e à morte de nemátodes adultos que hibernaram no olho dos bovinos.

#### **4.4 Diversidade de espécies de *Thelazia***

Os resultados obtidos são consistentes com relatos da literatura consultada respeitantes a espécies de *Thelazia* mais importantes na Europa (Euzéby, 1961; Klesov, 1950). A espécie *Thelazia rhodesi* Desmarest, 1822 foi predominante nas recolhas de nemátodes efectuadas no presente trabalho, ocorrendo em 93,1% dos animais infectados. As três principais espécies que parasitam bovinos, *T. rhodesi*, *T. gulosa* e *T. skrjabini* encontram-se dispersas por toda a Europa. Em particular na Itália encontram-se documentadas as três espécies e verifica-se que em aproximadamente 80% dos bovinos infectados ocorre *T. rhodesi*, enquanto em Espanha apenas se encontra relatada a espécie *T. rhodesi* (Jordano, 1945; Giangaspero *et al.*, 2000; Otranto e Traversa, 2005). Como seria de esperar as características morfológicas mensuradas para a espécie *T. rhodesi* são em geral coincidentes com os valores da literatura consultada, mediante pequenas variações que podem ser atribuídas ao operador (Tabela 4). O número de papilas pré-anais é algo inferior ao valor de referência na bibliografia, reflectindo a dificuldade intrínseca a esta medição que é muito influenciada pela posição do nemátode entre lâmina e lamela. De salientar que a distância média entre a vulva e a extremidade anterior no



presente trabalho encontra-se em consonância com Gupta e Kalia (1978), sendo todavia muito superior aos resultados de Naem (2007c).

Permanecem quatro nemátodes de espécie indeterminada, concorrendo duas hipóteses para este acontecimento: nemátodes imaturos ou nemátodes de outras espécies que não *T. rhodesi*. Na primeira hipótese, a informação literária relativa a estádios imaturos de *Thelazia* no HD é limitada, levando a dificuldades na sua identificação e diferenciação de espécies. Ainda assim, vários factores morfológicos e sazonais indiciam o “Indivíduo 2” como uma potencial forma imatura de *T. rhodesi* (ver Tabela 17). A visualização da cápsula bucal e marcada estriação cuticular transversa é remanescente da espécie *T. rhodesi*, embora as mensurações do nemátode sejam proporcionalmente inferiores ao padrão para a espécie. Enquanto a ausência de vulva ou útero e órgãos masculinos visíveis sugere tratar-se de uma forma imatura, noção reforçada pela recolha do nemátode no final de Maio (transição Primavera – Verão). A partir do início do Verão começam em geral a ser detectados estádios imaturos de *Thelazia* spp. em bovinos, prevalecendo até ao Outono quando cessa a transmissão pela entrada em diapausa dos vectores (Arbuckle e Khalil, 1978; Moolenbeek e Surgeoner, 1980).

Quanto à segunda hipótese, esta é aparentemente muito plausível para os “Indivíduos 1 e 3” (ver Tabela 17). As características morfológicas dos mesmos permitem descartar de imediato a espécie *T. rhodesi*, pela ausência de estriação cuticular grosseira e padrão característico em redor da vulva. Enquanto as mensurações relativas ao esófago, vulva e abertura bucal diferem dos valores médios para *T. rhodesi* obtidos neste trabalho, tal como dos valores da literatura consultada para a mesma espécie (Tabelas 4 e 15). Aliás a identificação do útero contendo ovos embrionados estabelece estes indivíduos como fêmeas adultas, com o inconveniente de a literatura raramente atribuir importância taxonómica a características de nemátodes fêmeas. A identificação da espécie de *Thelazia* é em geral fundamentada pelas características morfológicas dos machos, em especial o número de papilas pré-anais (Moonlenbeek e Surgeoner, 1980; Naem, 2007b). Ainda assim, a configuração e valores obtidos relativamente à cápsula bucal, esófago e vulva são concordantes com descrições bibliográficas disponíveis relativas à espécie *Thelazia gulosa* (Gupta e Kalia, 1978; Krafur e Church, 1985). A cápsula bucal, com a sua forma cupuliforme e abertura bucal de grande diâmetro, é particularmente característica e sugestiva da espécie *T. gulosa*. Estabelecendo os dois indivíduos como *T. gulosa* verifica-se que esta espécie ocorreu em 6,9% dos animais infectados, um valor muito inferior aos resultados de Giangaspero *et al.* (2000) em Itália, que encontrou 34,5% dos animais parasitados com nemátodes de *T. gulosa*.

Finalmente, ambas as hipóteses são aparentemente possíveis para o “Indivíduo 4” (Tabela 17). A presença de estriação cuticular ligeira associada a uma cápsula bucal pequena vem

mais uma vez descartar a espécie *T. rhodesi*. A cápsula bucal deste indivíduo é similar a registos fotográficos e descritivos de Krafur e Church (1985) para a espécie *T. skrjabini*, enquanto as características mensuradas (abertura bucal, comprimento e largura) coincidem com valores da literatura para adultos desta espécie. Contudo, a ausência de características sexuais sugerem tratar-se de uma forma imatura, o que tendo em conta a colheita do nemátode em Janeiro será pouco provável, pois implicaria a existência de vectores activos em pleno Inverno. Neste contexto, o número limitado de mensurações realizadas não permitem concluir com certeza quanto ao estadio evolutivo nem a espécie respeitante.

Enquanto as espécies de *Thelazia* podem ser identificadas especificamente com base em características morfológicas de estadios adultos, como a estriação cuticular, o aspecto da cápsula bucal, o comprimento do esófago, o aspecto e localização da vulva na fêmea e o número de papilas pré e pós-anais no macho. Os vários estadios do ciclo biológico associados a uma justaposição de valores mensurados na literatura levantam dificuldades na diferenciação de espécies, como aliás é evidente no presente trabalho. Uma forma de ultrapassar os constrangimentos da observação microscópica e obter resultados claros passa pela utilização de técnicas moleculares (Otranto e Traversa, 2004).

Vários autores referem uma predilecção das espécies de *Thelazia* para diferentes locais do olho (Euzéby, 1961; Kennedy e MacKinnon, 1994; Munang'andu *et al.*, 2011). No presente trabalho a distribuição dos nemátodes não foi significativa, apesar de uma tendência evidente para a área sob a membrana nictitante. Não deve ser descartada a possibilidade da morte do hospedeiro e subsequente estimulação eléctrica levar os nemátodes a sair das suas localizações habituais no olho do animal (Kennedy e Moraiko, 1987).

## II – Distribuição geográfica e condições geo-climáticas de thelaziose bovina na região do Alentejo.

“Everything is related to everything else, but near things are more related than distant things.”

Tobler (1970), First law of geography

### 1. Introdução

No capítulo I – “Análise da prevalência e importância clínica de *Thelazia* spp.”, foram evidenciadas associações entre infecção por *Thelazia* spp. e variáveis individuais de bovinos que influenciam a prevalência de thelaziose bovina. Contudo, a prevalência desta parasitose é também afectada por outros factores, independentes do hospedeiro definitivo singular, incluindo a distribuição de bovinos infectados, a dispersão de moscas infectadas e a capacidade de uma região suportar a população de moscas (Kennedy, 1993).

A espécie bovina vive normalmente em agregados de animais, denominados rebanhos. Dentro do mesmo rebanho o habitat e manejo sanitário são tendencialmente idênticos e standardizados para cada indivíduo, levando a que o risco de parasitismo por *Thelazia* spp. seja semelhante para todos os indivíduos do grupo. Em contraste, o risco entre rebanhos será variável, em parte devido a localizações geográficas diferenciadas. Torna-se assim vantajoso para a realização de análises de factores de risco não individuais de thelaziose, tal como para outros agentes patogénicos hoje em dia, a utilização do rebanho como unidade de interesse em vez do estatuto de cada indivíduo dentro do rebanho. Contudo, surge a problemática de como definir o estatuto do rebanho e consequentemente classificá-lo correctamente quanto à presença ou ausência de infecção. Em geral, um rebanho é classificado como positivo se for encontrado pelo menos um indivíduo positivo. Assim, se for identificado um animal parasitado com *Thelazia* spp., o rebanho é automaticamente classificado como infectado ou positivo, embora os restantes animais amostrados possam ser negativos. Por conseguinte, apenas é conferido um estatuto ao rebanho e não a nível individual dos animais, visto que podem estar presentes tanto indivíduos positivos como negativos no rebanho. Somente é conhecido que pelo menos um animal é positivo. Pelo contrário, um rebanho classificado como negativo confere automaticamente um estatuto negativo para todos os indivíduos do grupo (Houe *et al.*, 2004). Incorre-se assim no perigo de classificar um rebanho como Falso Negativo, visto que é possível obter uma amostra que não contém animais infectados apesar do rebanho ser verdadeiramente positivo (Christensen e Gardner, 2000). Para além de que a fiabilidade de uma classificação negativa não será a mesma se for baseada numa amostra de

animais reduzida (por exemplo: 2 animais amostrados de um rebanho de 200 animais) comparativamente a um número superior de amostras (por exemplo: 50 animais de um rebanho de 200 animais). Neste contexto, Martin *et al.* (1992) e Donald *et al.* (1994), citados por Christensen e Gardner (2000, p. 84), criaram o conceito de Teste de Rebanho, o qual permite avaliar a amostragem de animais e aplicar regras de decisão na classificação de rebanhos como positivos ou negativos com base em resultados individuais. O objectivo do Teste de Rebanho é minimizar erros na classificação do verdadeiro estatuto do rebanho (normalmente associado a um determinado nível de confiança) e validar o teste através da determinação da Sensibilidade e Especificidade de Rebanho (HSe e HSp, respectivamente). Ambas são dependentes da sensibilidade e especificidade do teste individual (Se e Sp, respectivamente), do número de animais amostrados ( $n$ ) e da prevalência de infecção verdadeira dentro do rebanho (Houe *et al.*, 2004).

O papel primordial do HI ou vector na disseminação intra e inter-rebanhos de *Thelazia* spp. torna indispensável considerar as variáveis que afectam a sua distribuição e abundância junto aos animais. Como já foi referido, na época reprodutiva as moscas fêmeas procuram secreções oculares de bovinos como fonte de proteína para a produção de ovos, infectando-se com *Thelazia* spp. neste processo. De modo que os padrões de disseminação da parasitose são dependentes, em particular, da amplitude de voo e da longevidade das moscas infectadas (Nazni *et al.*, 2005). Estimativas de distância máximo de voo para a *Musca domestica*, congénere da *M. autumnalis*, em regiões maioritariamente rurais variam entre 5 Km na Malásia e 32 Km na Califórnia (Nazni *et al.*, 2005). Contudo, Zurek (2004) afirma que apesar de as moscas conseguirem voar distâncias razoáveis, estas tendem a permanecer na vizinhança dos bovinos. Por conseguinte, a localização geográfica de explorações infectadas pode dar pistas quanto às características ambientais que favorecem a população de moscas. Em especial factores como a temperatura e a humidade ambiental, a topografia e o tipo de vegetação, podem hipoteticamente limitar o número de vectores e afectar a prevalência de thelaziose bovina a nível do rebanho (Kennedy, 1993).

No presente enquadramento foi desenvolvido um segundo trabalho que se propõe a analisar de um ponto de vista distinto os dados obtidos entre 15 de Novembro de 2011 e 25 de Maio de 2012 no Matadouro Regional de Alto Alentejo SA, Sousel, no distrito de Portalegre. Cumprindo os seguintes objectivos:

- Localizar geograficamente os animais e explorações em estudo;

- Determinar factores de risco geoespaciais, de manejo e geo-climáticos para a presença de *Thelazia* spp. em explorações de bovinos;
- Identificar espacialmente aglomerados de infecção e caracterizá-los.

Caracterizar a distribuição e ecologia da infecção por *Thelazia* spp. e indirectamente das espécies vectoras, é imprescindível para uma melhor compreensão da epidemiologia da thelaziose bovina. Neste sentido podem ser utilizados os Sistemas de Informação Geográfica (SIG) como instrumentos de modelação de problemas, análise e simulação de cenários. Ao permitir a correlação de variáveis distintas com base em informação georreferenciada os SIG's permitem ao utilizador examinar a distribuição de thelaziose, estabelecer associações entre variáveis e detectar aglomerados de parasitismo (Faunalia, 2010).

## **2. Material e métodos**

### **2.1 Área de estudo**

O estudo foi conduzido no Sul de Portugal (latitude: 40°N e 37°N, longitude: 9°E e 7°E), na região do Alentejo, incluindo os distritos de Portalegre, Évora, Setúbal e Beja. Esta região ocupa uma área total de 26158 km<sup>2</sup>, correspondendo a aproximadamente 29% da superfície total do País. Caracteriza-se por uma grande uniformidade de peneplanícies, onde se encontram dispersas massas montanhosas de baixa altitude, variando entre 37m e 656m acima do nível do mar com uma altitude média de 249m acima do nível do mar. A salientar as Serras de São Mamede em Portalegre (1025m), Serra de Monfurado (420m) e Serra de Grândola (371m) em Setúbal, Serra de Ossa em Évora (653m), e Serra de Ficalho (560m) em Beja. O clima é temperado Mediterrâneo, com Verões quentes e secos e Invernos chuvosos e suaves. A diminuição da influência marítima torna as regiões interiores do Alentejo especialmente quentes no Verão e relativamente frias no Inverno (Diciopédia 2003, 2002). A temperatura média anual é de 16,4°C (4,7 – 33,5°C), com uma precipitação anual que varia entre 2mm e 126,5mm.

A região é principalmente ocupada por áreas agro-florestais e terrenos agrícolas em que as principais culturas são o trigo, o centeio, o girassol e o tomate, sendo também importantes as produções de cortiça, vinha e olival (Diciopédia 2003, 2002). Na pecuária é de referir a produção de bovinos, ovinos, caprinos e suínos. O efectivo bovino na região do Alentejo compreende mais de 1/3 do efectivo nacional, com 17 150 vacas de leite e 457 513 bovinos de carne. A dimensão média do efectivo bovino nesta região demonstra uma concentração de animais em grandes explorações, apresentando em média 122,9 cabeças por exploração (Instituto Nacional de Estatística [INE], 2006).

## 2.2 Base de dados

A informação utilizada no presente estudo foi baseada nos dados obtidos entre 15 de Novembro de 2011 e 25 de Maio de 2012 no Matadouro Regional de Alto Alentejo SA, Sousel, no distrito de Portalegre. Neste período foram examinados um total de 571 bovinos, através de um exame ocular *post mortem*, cuja técnica é enunciada no capítulo anterior. Como já foi referido no capítulo I – “Análise da prevalência e importância clínica de *Thelazia* spp.”, as cabeças foram numeradas segundo a sequência de apresentação na linha de abate, com um lápis de cor. Posteriormente, foram consultadas as listagens contendo a ordem de abate e de seguida as respectivas Declarações de deslocação, Guias de circulação, Passaportes e Fichas de recepção de bovinos, sendo registado para cada animal: a data de abate, a data de nascimento, a idade à data de abate, o sexo, a raça, o sistema de produção, o nome e morada da exploração.

No total foram amostradas 95 explorações de bovinos. Exceptuando quatro explorações dos distritos da Marinha Grande e Castelo Branco, todas as restantes explorações estão situadas na região do Alentejo.

A aplicação de um Teste de Rebanho consistiu num critério de selecção das explorações a incluir ou excluir na análise. A nível individual foram considerados positivos todos os animais infectados apresentando pelo menos um nemátode ocular. Neste contexto, a especificidade ( $Sp$ ) do teste será aproximadamente 1, ou seja, é pouco provável ocorrerem bovinos Falsos Positivos. A nível do rebanho, este foi designado positivo a partir do momento em que pelo menos um animal testado individualmente se encontrava infectado. A fórmula para o cálculo do HSp de um rebanho (probabilidade de um rebanho verdadeiramente negativo ser classificado como negativo usando o Teste de Rebanho), quando são testados  $n$  animais é apresentada de seguida (Houe *et al.*, 2004):

$$HSp = Sp^n \quad (1)$$

Substituindo na fórmula  $Sp=0,999$  verifica-se que para um qualquer número  $n$  de animais testados, o valor de HSp será sempre aproximadamente 1.

Quanto à HSe do rebanho (probabilidade de um rebanho verdadeiramente positivo ser classificado como positivo usando o Teste de Rebanho) quando  $n$  animais são testados, pode ser calculada pela seguinte fórmula (Houe *et al.*, 2004):

$$HSe = 1 - (1 - AP)^n \quad (2)$$

Sendo AP a Prevalência Aparente de *Thelazia* para cada rebanho infectado, que determina a probabilidade de um animal apresentar um resultado positivo, temos que:

$$AP = \frac{T_{animais \text{ inf}}}{T_{animais \text{ por rebanho}_i}} \quad (3)$$

No presente estudo, foram identificados 29 animais infectados pertencentes a 16 explorações, destas foram amostrados um total de 137 bovinos. Assim, substituindo  $T_{animais \text{ inf}} = 29$  e  $T_{animais \text{ por rebanho}_i} = 137$ , obtêm-se uma  $AP=0,2117$ . Este valor foi utilizado na fórmula (2) em conjunto com o número  $n$  de animais testados em cada exploração para determinar o valor HSe de cada uma das 95 explorações de bovinos amostradas. Assim, a probabilidade de uma exploração ser classificada como Falsa Negativa vai variar consoante o número  $n$  de animais testados na mesma. De seguida e com base nos valores de HSe obtidos, foi estabelecido um valor crítico de HSe para a inclusão de explorações no estudo. Os critérios usados na escolha deste valor objectivaram a manutenção de um volume de dados aceitável para a análise geoespacial e geo-climática sem comprometer o nível de confiança do Teste de Rebanho.

## 2.3 Análise geoespacial e geo-climática

### 2.3.1 Camadas de informação geográfica

As camadas de informação geográfica são essenciais para qualquer análise geoespacial, uma vez que consistem na fonte de dados da análise. Os tipos de camadas mais utilizados são: camadas vectoriais e camadas raster. Uma camada vectorial utiliza figuras geométricas (pontos, linhas e polígonos) para representar o mundo real, enquanto uma camada raster é constituída por uma matriz de pixéis, cada um contendo um valor que representa as condições na área coberta pela matriz. O conhecimento do local exacto da superfície terrestre em que a camada vectorial ou raster foi criada é essencial, permitindo que qualquer programa SIG apresente a camada no local correcto do mapa. A informação posicional da camada é denominada como Sistema de Referência de Coordenadas (SRC) e pode ser obtida pelo processo de georreferenciação. Contudo, normalmente é possível encontrar esta informação associada ao ficheiro contendo a camada vectorial ou raster (Chief Directorate, 2009).

#### 2.3.1.1 Vectorial

O conhecimento da localização geográfica de cada exploração em estudo constitui a camada de informação geográfica basilar deste trabalho. Trata-se de uma camada vectorial pela sua representação na forma de pontos, criados a partir de coordenadas (Chief Directorate, 2009). Estão disponíveis vários serviços que permitem a obtenção de coordenadas de um dado local.

No âmbito do presente trabalho optou-se pela utilização do serviço de “Localização Toponímica”, disponibilizado pelo Instituto Geográfico Português (IGP). Para tal tornou-se imperativo conhecer a toponímia de cada exploração amostrada e, neste sentido, durante a recolha de dados foram obtidas informações relativas ao nome, à morada e ao produtor da maioria das explorações. Nas situações em que o nome e/ou morada não eram conhecidos, os produtores foram contactados para obtenção desta informação. Nos casos em que o serviço de Localização Toponímica não forneceu resultados foi realizada a consulta manual dos mapas cartográficos das “Secções Cadastrais do Cadastro Geométrico da Propriedade Rústica”, também disponibilizado online pelo IGP. As coordenadas foram obtidas através do cruzamento de informação com o Google Maps, encontrando-se as mesmas no Sistema de Referência de Coordenadas WGS 84, EPSG:4326, e posteriormente registadas numa base de dados em formato .csv. Ainda assim, não foi possível localizar 4 explorações, devido a insuficientes dados obtidos no matadouro ou junto do produtor, e/ou inexistência da toponímia nos serviços de localização utilizados.

Como modelo representativo do território de Portugal foi utilizada a Carta Administrativa Oficial de Portugal (CAOP) versão 2012.0, disponibilizada pelo IGP, no sistema de referência PT-TM06/ETRS89 – (European Terrestrial Reference System 1989), EPSG:3763. Nesta estão representadas as delimitações oficiais de Portugal, e de cada Distrito, Município e Freguesia do país na forma de polígonos, com uma precisão de valores superior ou igual ao rigor da escala 1:25000.

### **2.3.1.2 Raster**

O formato raster é útil na apresentação de informação heterogénea e contínua ao longo de uma área e, portanto, difícil de representar por figuras geométricas de uma camada vectorial (Chief Directorate, 2009). Assim, as camadas de informação geográfica utilizadas na análise de factores de risco de infecção, em suma, tipo de ocupação de solo, clima e altitude encontram-se neste formato.

O estudo do tipo de ocupação do solo foi realizado com base na Corine Land Cover (CLC) - versão 13 (05/2005), disponível pela Agência Europeia do Ambiente, no sistema de coordenadas ETRS89/ETRS-LAEA, EPSG:3035. Este raster representa a ocupação do solo em toda a Europa com uma resolução de 100 metros, encontrando-se categorizada através de 44 classes, descritas em Anexo.

A análise climática foi baseada em diversos índices bioclimáticos presentes no raster Bioclim, disponível online pelo WorldClim, no sistema de referência de coordenadas WGS 84, EPSG:4326. O WorldClim permite obter um raster de uma zona específica do globo, diminuindo assim o tamanho do ficheiro sem comprometer a sua resolução. Desta forma foi



escolhida a zona 15, que representa apenas a Península Ibérica, com uma resolução espacial de 30 arc-segundos (~1 km). A informação é dividida em 19 camadas raster, cada um representando uma variável bioclimática derivada de valores de temperatura (°C\*10) e precipitação (mm) mensais observados em estações meteorológicas entre 1950 e 2000. As variáveis bioclimáticas usadas neste estudo encontram-se descritas em Anexo.

A base gráfica utilizada para a análise de hipsometria encontra-se igualmente disponível online pelo WorldClim, sob a forma do raster Altitude – zona 15, também no sistema de referência de coordenadas WGS 84, EPSG:4326. Este apresenta dados relativos à elevação do terreno em relação ao nível do mar, em metros, com uma resolução espacial de 30 arc-segundos (~1 km).

**Tabela 18: Sistema de Referência de Coordenadas original das camadas de informação geográfica utilizadas na análise.**

<b>Camada de informação geográfica</b>	<b>SRC de origem</b>
Coordenadas das explorações	WGS 84, EPSG:4326
CAOP versão 2012.0	PT-TM06/ETRS89, EPSG:3763
CLC – versão 13 (05/2005)	ETRS89/ETRS-LAEA, EPSG:3035
Bioclim – zona 15	WGS 84, EPSG:4326
Altitude – zona 15	WGS 84, EPSG:4326

### 2.3.2 Sistema de Informação Geográfica

A análise geoespacial foi realizada com o auxílio de três programas open source disponíveis online, a nomear:

- O software Quantum GIS<sup>®</sup>, versão 1.8.0 “Lisboa”, da GNU Public License, e respectivas extensões. O qual permite a visualização de informação raster e vectorial em diferentes formatos e projecções, criação de mapas, exploração de informação espacial e execução de análises espaciais.
- O software Geographic Resources Analysis Support System (GRASS)<sup>®</sup>, versão 6.4.2, desenvolvido pela GRASS Development Team. O programa GRASS é usado para gestão e análise de informação geográfica, processamento e visualização de imagens, e produção de gráficos, mapas e modelos espaciais.
- O software SaTScan<sup>®</sup>, versão 9.1.1.0, permite realizar análises estatísticas de agregados espaciais, temporais e espaço-temporais. O programa foi desenhado para

testar se uma doença se distribui aleatoriamente no espaço, no tempo ou ambos; e para executar rastreios geográficos de doença, detectar agregados espaciais e espaço-temporais de doença, e determinar a sua significância estatística.

### **2.3.2.1 Localização geográfica**

O primeiro passo da localização geográfica das explorações em estudo consistiu na escolha do SRC do mapa, uma vez que a CAOP e as coordenadas das explorações se encontram em SRC diferentes. Por uma questão de praticabilidade preferiu-se proceder à reprojecção das coordenadas das explorações para o Sistema de Referencia de Coordenadas da CAOP. Trata-se de um procedimento relativamente simples, que consiste em carregar o ficheiro .csv com as coordenadas das explorações para o QGIS no sistema de coordenadas original (WGS 84), usando a extensão “Delimited Text” e guardar de seguida a camada no formato shapefile escolhendo o novo SRC, neste caso PT-TM06/ETRS89. Após este processo, foram carregados os respectivos shapefiles contendo a CAOP e as coordenadas das explorações no QGIS, de forma a obter um mapa com a localização geográfica das mesmas.

A representação do número de animais parasitados por concelhos foi realizada através da extensão “Pontos no Polígono” com uma posterior categorização colorimétrica.

### **2.3.2.2 Análise de factores de risco geo-climáticos**

A análise de factores de risco foi realizada com o intuito de detectar factores presentes na vizinhança das explorações que pudessem explicar a distribuição geoespacial de thelaziose bovina na região do Alentejo. Os rasters Bioclim e Altitude apresentam informação geográfica distinta do raster CLC, valores médios e presença de classes de ocupação de solo, respectivamente, pelo que foram aplicadas duas abordagens distintas.

Ponderando a análise da CLC, pretendeu-se determinar a distância média de cada exploração a cada classe de ocupação de solo. O serviço de Localização toponímica, disponibilizado pelo IGP, normalmente estabelece como ponto de referência de coordenadas os edifícios presentes na propriedade. Assim, foi delimitado um perímetro em redor destes que melhor representasse a exploração nesta análise. No QGIS, com a extensão “Ferramentas de geoprocessamento”, foram criados buffers, polígonos circulares de raio conhecido cujo centro é estabelecido pelas coordenadas de cada exploração. O raio definido para a construção dos buffers foi fundamentado por estudos de distância máxima de voo de Muscídeos (Nazni *et al.*, 2005), tendo em conta que os vectores tendem a permanecer na vizinhança dos bovinos foi utilizada a estimativa de voo mínima de 5 km. A camada vectorial produzida foi guardada num formato shapefile.

O QGIS contém uma extensão muito útil neste tipo de análise, a “Zonal statistics”, que permite calcular a soma, o valor médio e a contagem total de pixels no interior de uma camada vectorial de polígonos, podendo os dados obtidos ser posteriormente analisados estatisticamente. Contudo, o “Zonal statistics” apresenta uma limitação, uma vez que apenas pode ser utilizada em camadas raster que representem uma única classe ou característica.

Numa primeira fase, procedeu-se ao corte da área representativa de Portugal e exclusão da restante camada, com o “Cortador matricial”. Relembrando, o CLC integra informação sobre 44 classes de ocupação de solo numa única camada raster, o que vai de encontro à limitação da extensão “Zonal statistics”. Todavia, esta limitação foi ultrapassada através da criação, com base no CLC original, de 44 camadas raster contendo cada uma, uma única classe de ocupação de solo. Tal foi conseguindo através do GRASS, usando o comando `r.reclass`; após importar para o GRASS a camada raster CLC de Portugal, através do comando `r.in.gdal.qgis.loc`. O comando `r.reclass` realizou uma reclassificação da CLC original, com base num ficheiro `.txt` contendo regras de reclassificação, que permitiu a criação de uma nova camada contendo apenas uma classe, por exemplo: a camada `corine_31` que representa apenas aglomerados de rocha nua.

O passo seguinte consistiu na criação de uma camada raster de distância em metros para a classe de ocupação de solo na camada de entrada, com o comando `r.grow.distance`. Este passo é fundamental pois, por exemplo na camada `distancia_31`, permitiu obter um mapa em que a cor de cada pixel representa a distância em metros mínima para aglomerados de rocha nua mais próximas. As camadas foram gravadas no formato `.tiff`, através do comando `r.out.gdal.gtiff`.

Retornando ao QGIS, foram carregados o shapefile com os buffers de raio=5km (após a sua reprojecção para o SRC da CLC) juntamente com os raster criados no GRASS e aplicada a extensão “Zonal statistics” (Fig. 17). Os valores obtidos foram guardados no formato `.csv`, permitindo realizar uma análise estatística no programa R 2.15.1.

A análise climática pretendeu determinar o valor médio das variáveis climáticas no interior da área média de dispersão dos vectores Muscúdeos de *Thelazia* spp.. Portanto, foi também aplicada a extensão “Zonal statistics” com o auxílio de buffers de raio=5km. No processo de análise os 19 raster bioclim foram carregados no QGIS juntamente com os buffers, no sistema de coordenadas WGS84. De seguida foi usada a extensão “Zonal statistics”, os resultados guardados no formato `.csv` e analisados no programa R. A análise de hipsometria foi realizada segundo o mesmo procedimento.

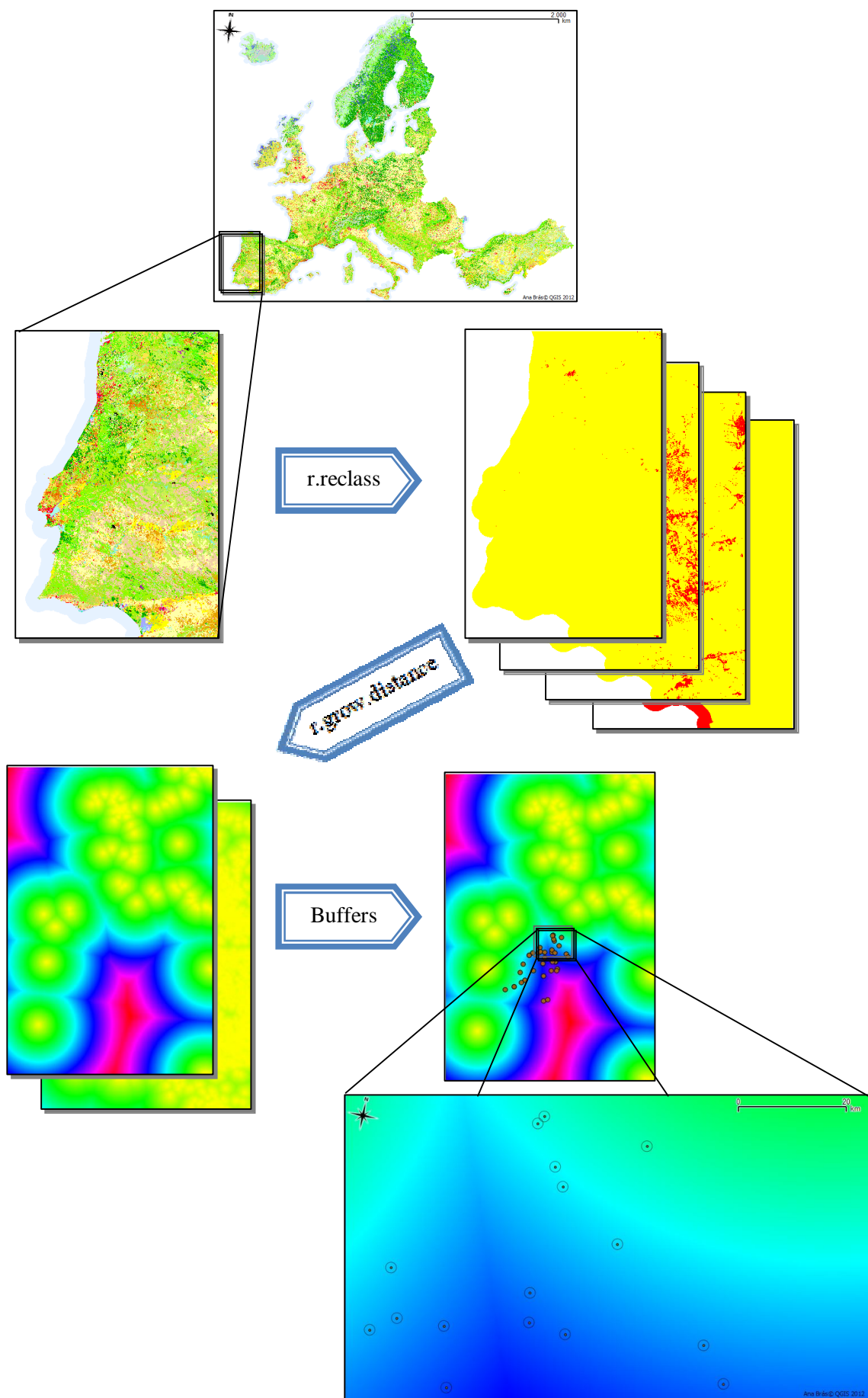


Figura 17: Processo de análise de ocupação de solo com base no raster CLC.

### 2.3.2.3 Análise de agregados espaciais

A análise estatística de agregados ou clusters foi realizada com o software SaTScan, com o objectivo de testar se a distribuição geográfica de thelaziose no presente trabalho foi aleatória ou não. Caso a distribuição não seja aleatória, e portanto sejam detectados agregados, o software permite identificá-los, avaliar a sua significância e risco relativo (RR). Em termos práticos o valor de risco relativo permite afirmar que o risco de um animal pertencente a um agregado estar infectado é RR vezes superior ao risco de um animal fora do agregado estar infectado.

O programa SaTScan foi configurado para realizar uma análise puramente espacial (avaliando a localização geográfica dos casos dentro da área de estudo), obedecendo ao modelo de distribuição de Bernoulli (numa distribuição binomial, em que as variáveis caso e controlo representam indivíduos infectados e não infectados, respectivamente), considerando o tamanho máximo de agregados como 50% da população bovina em estudo, e realizando 999 replicações de Monte Carlo. Quanto aos dados empregues, foi atribuída uma identificação a cada exploração e utilizados dados relativos às mesmas, em suma, número de animais positivos, número de animais negativos e coordenadas respectivas.

Contudo, o SaTScan não permite a visualização geográfica dos resultados da análise. Não obstante, são produzidos ficheiros de resultados que descrevem os agregados, segundo as coordenadas centrais e o raio dos mesmos, o que permite representá-los num mapa através do programa QGIS. Com este propósito o ficheiro de resultados foi importado para o QGIS em simultâneo com os shapefiles da CAOP e das coordenadas das explorações, sendo criados buffers representativos dos agregados a partir da informação obtida pelo SaTScan.

## 2.4 Análise estatística

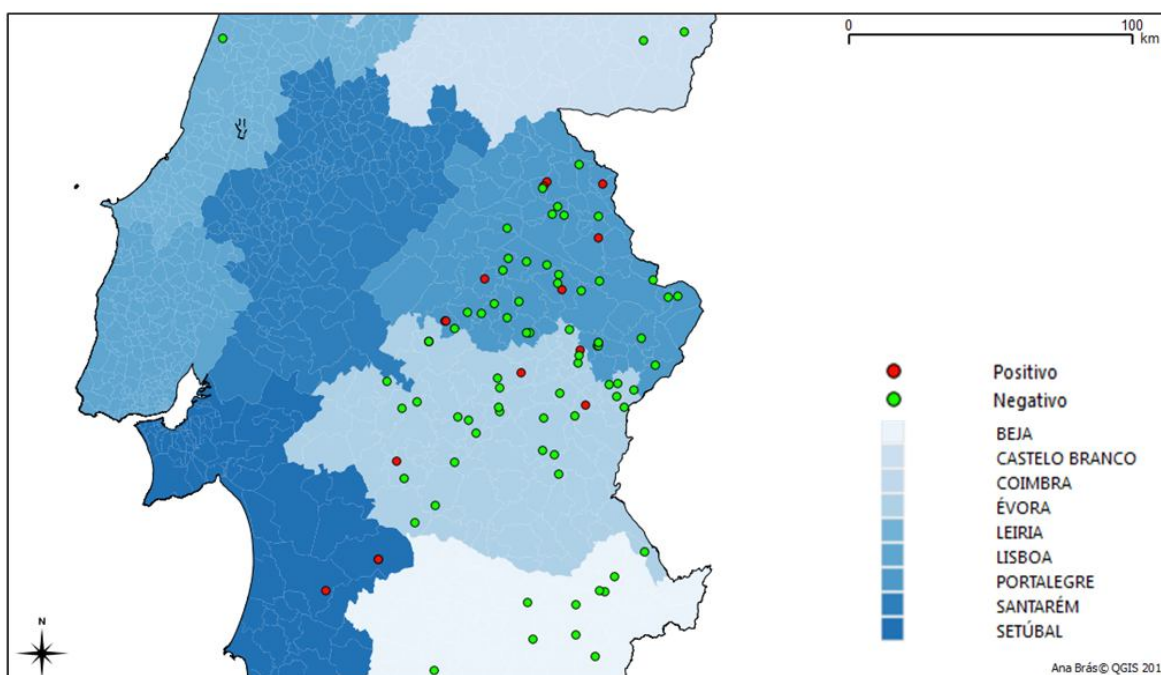
A base de dados utilizada foi previamente tratada no capítulo I – “Análise da prevalência e importância clínica de *Thelazia* spp.”. Com o auxílio do Software do Microsoft Office Excel 2007<sup>®</sup> foi acrescentada informação relativa à localização geográfica das explorações e o número de animais amostrados total, positivos e negativos para as mesmas. De seguida foi empregue a fórmula (2) no cálculo da HSe para cada exploração. Os dados relativos à HSe foram explorados com o auxílio do software R<sup>®</sup> versão 2.15.1 desenvolvido pela R Foundation for Statistical Computing, disponível online. Realizou-se uma análise descritiva, seguida de uma representação gráfica da distribuição das HSe relativamente ao número total de animais amostrados por exploração num scatterplot. Com base nos resultados foi estabelecido um limite crítico para a HSe e aplicada uma função lógica “SE” para a selecção das explorações para análise, no Microsoft Office Excel 2007<sup>®</sup>.

Os dados obtidos a partir da análise geoespacial foram trabalhados estatisticamente com o software R<sup>®</sup>. O nível de significância utilizado nos testes estatísticos foi de 5%. Foi aplicado o “Teste-t para amostra independente”, também denominado teste-t de Welch para duas amostras. As variáveis com valor de p significativo foram representadas graficamente na forma de boxplots, de forma a comprovar o tipo de associação presente. Em particular, na análise de ocupação de solo foi ainda aplicado um critério de selecção baseado na distância máxima de voo para a *Musca domestica* em meio rural relatada na literatura. Assim, apenas foram consideradas significativas as classes de ocupação de solo cuja distância média a explorações fosse inferior a 32km (Nazni *et al.*, 2005).

Os dados relativos ao Sistema de produção foram analisados com um “Teste de Qui-quadrado de Pearson”, considerando um nível de significância de 5%. A representação gráfica foi gerada no Software Microsoft Office Excel 2003.

### 3. Resultados

#### 3.1 Localização geográfica



**Figura 18: Localização geográfica dos bovinos examinados no Matadouro de Sousel.**

Na Fig. 18 estão representadas as localizações geográficas das 91 explorações amostradas em matadouro (não foi possível localizar 4 explorações, das quais foram examinados 6 animais). A categorização por cores das mesmas foi baseada no resultado individual dos 565 bovinos examinados no Matadouro de Sousel, nada aferindo quanto ao estatuto da exploração como infectada ou não. Ao considerar o número de casos de thelaziose por concelho (Fig. 19), observa-se que Portalegre apresentou o maior índice de parasitose com 21,4% (IC<sub>95%</sub>=9,8 –

40,7) dos casos, seguido de Castelo de Vide e Grândola 14,3% ( $IC_{95\%}=5 - 31,6$ ) e Avis 10,7% ( $IC_{95\%}=3 - 27,9$ ). Os concelhos de Marvão, Vila Viçosa e Alcácer do Sal com 7,1% ( $IC_{95\%}=1,3 - 22,4$ ) e Nisa, Montemor-O-Novo, Estremoz, Borba e Monforte com 3,6% ( $IC_{95\%}=0,2 - 17$ ). Nos restantes concelhos da região do Alentejo não foram identificados animais infectados com *Thelazia*.

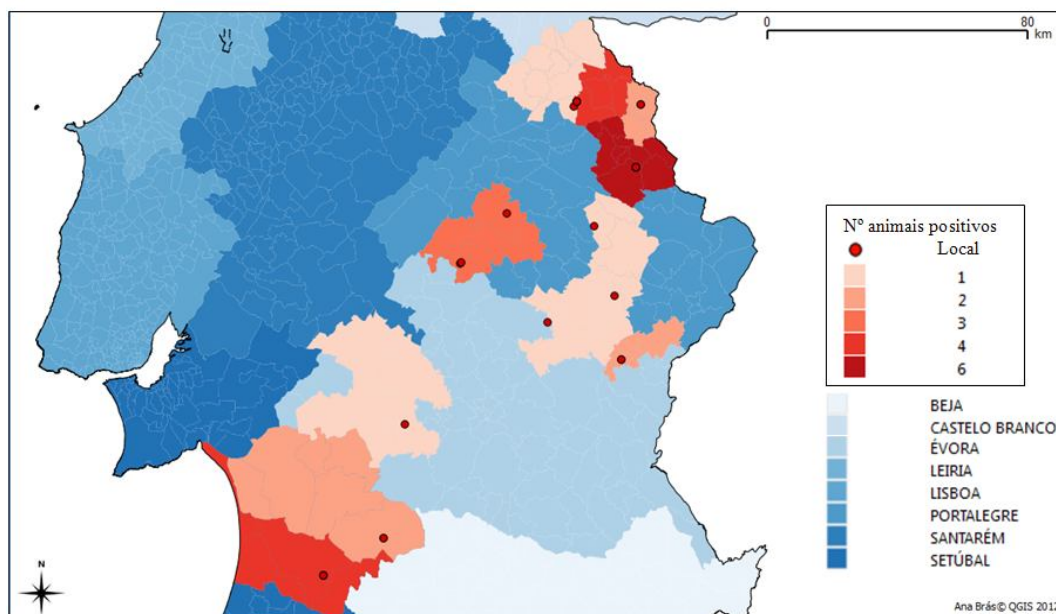


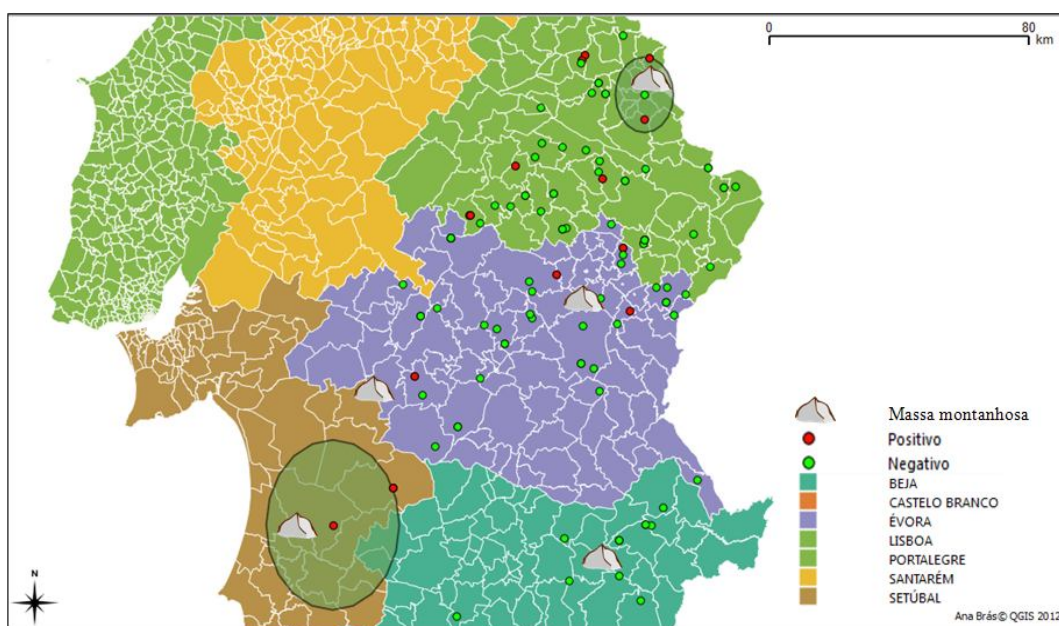
Figura 19: Distribuição de animais parasitados por concelho da região do Alentejo.

### 3.2 Análise de agregados espaciais

A análise puramente espacial dos dados relativos à região do Alentejo revelou quatro agregados de risco de infecção por *Thelazia* spp., contudo apenas dois demonstraram ser estatisticamente significativos ( $p<0,05$ ). Os resultados sugerem que a distribuição da parasitose não é aleatória, pelo que foram detectados dois aglomerados de risco superior de infecção, apresentados na Fig. 20. O agregado principal de maior verossimilhança envolveu uma parte do distrito de Portalegre, de centro no concelho de Marvão. O agregado secundário engloba parte do distrito de Setúbal e limites contíguos do concelho de Ferreira do Alentejo, com centro no concelho de Grândola.

O número de bovinos amostrados dentro de cada um dos agregados foi semelhante e segundo a análise era esperado aproximadamente um animal positivo em cada agregado. Todavia, foram detectados 8 e 6 animais positivos, respectivamente no agregado principal e secundário, o que confere um risco de infecção entre 11 a 13 vezes superior para um bovino pertencente ao perímetro delimitado comparativamente a um animal fora destas áreas (Tabela 19).





**Figura 20: Representação geográfica de agregados de risco relativo superior de *Thelazia* em bovinos da região do Alentejo.**

**Tabela 19: Caracterização dos agregados espaciais.**

	Agregado principal	Agregado secundário
Nº Explorações incluídas	3	3
População	17	13
Número de casos	8	6
Casos esperados	0,86	0,65
Casos observados / casos esperados	9,34	9,16
Risco relativo	12,68	11,39
Valor de p	0,00011	0,0029

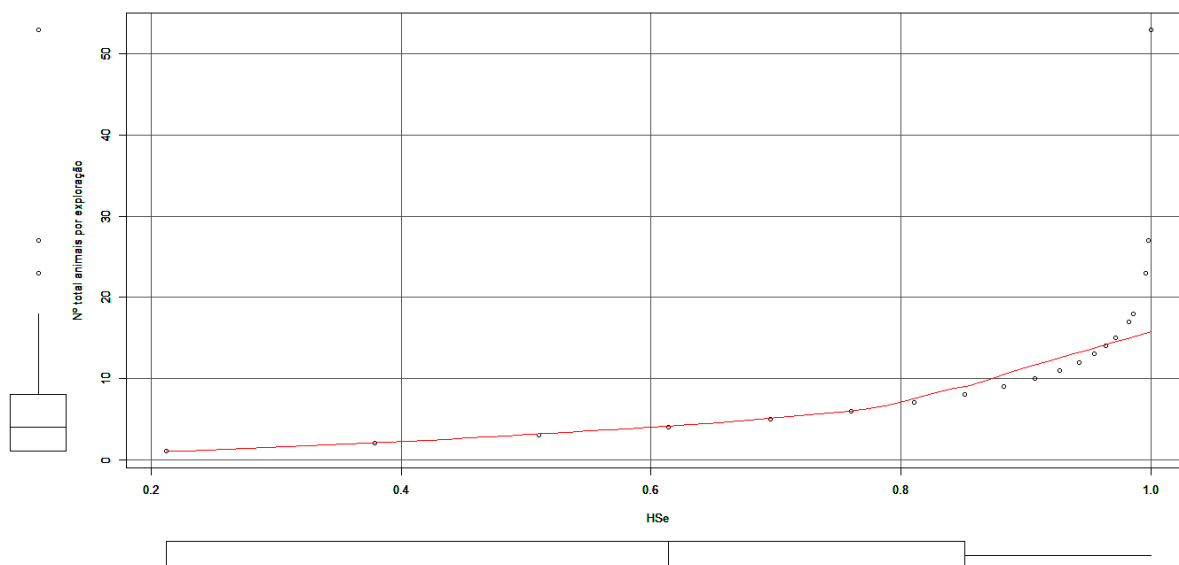
### 3.3 Análise de factores de risco

#### 3.3.1 Análise preliminar com cálculo de HSe

Em matadouro foram amostradas 95 explorações, sendo que para cada uma foram examinados entre 1 e 53 bovinos. Verifica-se uma grande variação da amostragem que se reflecte numa variação proporcional da Sensibilidade do exame ao nível do rebanho associada a cada exploração, representada no Gráfico 5. De resto a análise do dito gráfico permite determinar que 50% das explorações apresentam uma HSe < 0,61, valores que apresentam implícitos uma probabilidade de explorações Falsas Negativas inaceitável. A quarta parte (25%) de explorações com maior número de bovinos amostrados em matadouro apresenta uma HSe > 0,85, um valor razoável e que permite assegurar dados suficientes para a realização da análise.



## Distribuição de HSe relativamente ao nº de animais amostrados por exploração



**Gráfico 5: Distribuição de valores de Sensibilidade do exame a nível do rebanho relativamente ao número de animais amostrados por exploração.**

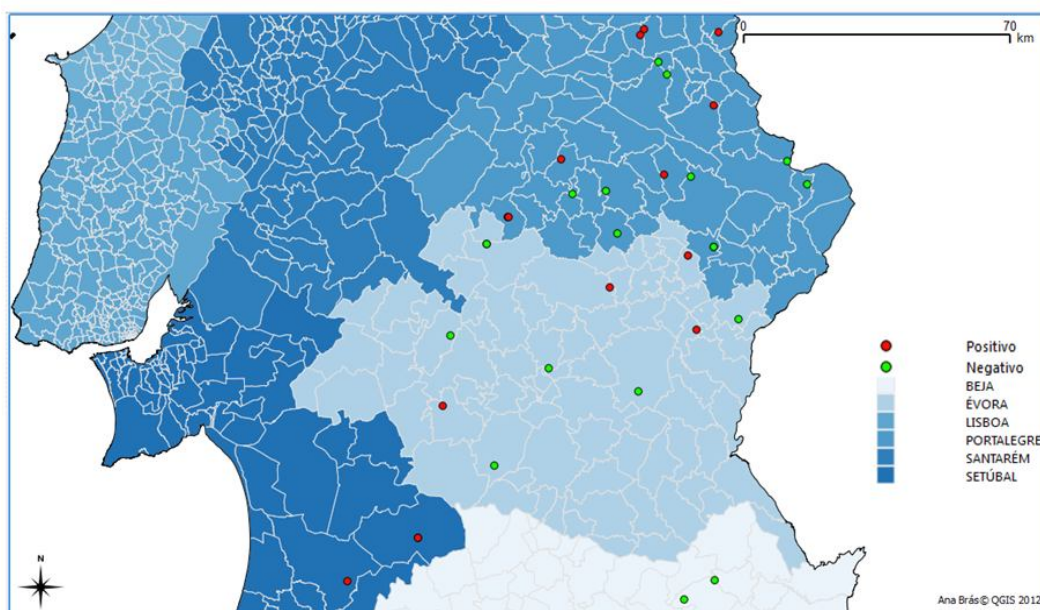
Nota: associado a cada eixo encontra-se uma boxplot representando a distribuição do nº total de animais por exploração.

Por conseguinte, foram seleccionadas para análise as explorações classificadas como positivas, exceptuando uma exploração pertencente a Castelo Branco, bem como todas as explorações classificadas como negativas com  $HSe > 0,85$ . Por outras palavras, foram incluídas na análise todas as explorações negativas em que foram amostrados pelo menos 8 animais, perfazendo um total de 34 explorações em análise (Tabela 20).

**Tabela 20: Distribuição por distrito das explorações com  $HSe > 0,85$ , incluídas na análise.**

Distrito	Nº expl. positivas	Nº expl. negativas	Total
Beja	0	2	2
Setúbal	3	0	3
Évora	4	7	11
Portalegre	8	10	18
Total	15	19	34

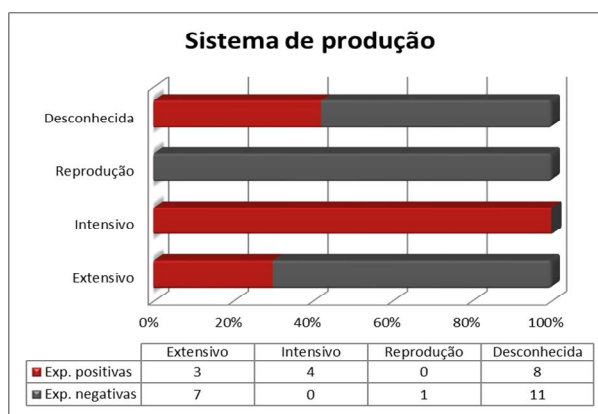
No âmbito da análise segundo o estatuto da exploração, encontram-se representadas na Fig. 21 as 34 localizações de interesse para o estudo. Desta feita a categorização por cores está de acordo com o estatuto da exploração como positiva ou negativa com uma  $HSe > 0,85$ . De notar que explorações de grande proximidade entre elas podem encontrar-se representadas por pontos sobrepostos.



**Figura 21: Distribuição geográfica das explorações com HSe > 0,85, incluídas na análise.**

### 3.3.2 Sistema de produção

Apesar da prevalência de infecção em explorações intensivas ser aparentemente superior às restantes (Gráfico 6), a diferença entre sistemas de produção não foi estatisticamente significativa ( $p=0,0823$ ). Contudo, parece evidente uma tendência de prevalência de infecção superior em sistemas intensivos comparativamente ao extensivo. Para mais de metade das explorações (55,9%,  $n=19$ ) não foi possível determinar qual o sistema de produção aplicado.



**Gráfico 6: Prevalência de infecção nos vários sistemas de produção.**

### 3.3.3 Factores geo-climáticos

As classes de ocupação de solo, hipsometria e variáveis climáticas associadas à localização das explorações em estudo são apresentadas na Tabela 21. Áreas classificadas como zonas principalmente agrícolas com áreas naturais importantes; floresta de folhosas, coníferas e mista; charnecas ou matos indicaram uma possível influência na distribuição de thelaziose bovina entre explorações ( $p<0,05$ ). Todas as restantes classes de ocupação de solo não apresentaram associação estatística.

As restantes variáveis apresentam uma relevância aparentemente diminuta. A hipsometria ou altitude das explorações e área circundante não apresentaram associação estatística com o estatuto parasitário das mesmas ( $p>0,05$ ). As variáveis relativas à precipitação mostraram-se todas estatisticamente independentes do estatuto da exploração ( $p>0,05$ ). Enquanto a amplitude média diurna, a temperatura máxima do mês mais quente, a temperatura média do trimestre mais seco e a temperatura média do trimestre mais quente demonstraram alguma influência na parasitose. Apesar de serem estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ) estas variáveis denotam uma diminuta amplitude de valores térmicos entre as explorações positivas e negativas.

**Tabela 21: Descrição sintética de factores de risco geo-climáticos significativos.**

Factor de risco		Valor médio da variável	IC 95%	Valor de p
<b>Ocupação de solo (distância em m)</b>				
Zonas principalmente agrícolas com áreas naturais importantes	P	3981,3	464,1 – 4360,1	0,017
	N	6393,4		
Floresta de folhosas	P	918,8	24,8 – 1408,0	0,043
	N	1635,2		
Floresta de coníferas	P	9320,6	2457,6 – 12339,7	0,005
	N	16719,2		
Floresta mista de folhosas e coníferas	P	8179,8	2101,3 – 11780,0	0,006
	N	15120,5		
Charnechas ou matos	P	28544,2	1050,3 – 29758,0	0,036
	N	43948,5		
<b>Hipsometria (m)</b>	P	247,41	-86,3 – 77,2	0,909
	N	242,88		
<b>Clima (°C)</b>				
Amplitude média diurna	P	9,9	0,051 – 0,696	0,025
	N	10,3		
Temperatura máxima do mês mais quente	P	31,1	0,061 – 1,069	0,029
	N	31,7		
Temperatura média do trimestre mais seco	P	22,9	0,033 – 0,62	0,03
	N	23,3		
Temperatura média do trimestre mais quente	P	23,3	-0,001 – 0,536	0,051
	N	23,6		

P=Explorações positivas; N=Explorações negativas

## 4. Discussão

O presente trabalho confirma a presença de thelaziose bovina extensamente disseminada pelo Velho Continente, inclusive no Sul de Portugal. A latitude da área em estudo (entre 37°N e 40°N) encontra-se dentro da amplitude de valores de países Orientais, da América do Norte, e do Sul e Centro da Europa em que já foi relatada a presença de thelaziose bovina (entre 25°N e 53°N para América do Norte e China, respectivamente). Além disso o único caso de thelaziose bovina oficialmente descrito em Espanha, Lora del Rio (Jordano, 1945), encontra-se dentro da amplitude de latitudes da região Alentejana.

Na verdade o clima dos países em que a presença de *Thelazia* spp. em bovinos foi documentada varia consideravelmente, desde tropical (por exemplo: Sul da China), temperado (por exemplo: Europa Central), subtropical (por exemplo: Japão), mediterrânico (por exemplo: Itália e Espanha), entre outros. Uma vez que a ocorrência de *Thelazia* se encontra intimamente relacionada com a presença de vectores, e por conseguinte com as condições ambientais, a grande amplitude de climas evidenciada parece sugerir, ou a existência de mais do que um vector, ou apenas um vector de distribuição mundial (Otranto *et al.*, 2003).

### 4.1 Localização geográfica e agregados espaciais

A localização geográfica dos animais apresentados ao Matadouro Regional de Alto Alentejo SA, Sousel, durante a investigação demonstra uma dispersão espacial integrada na região do Alentejo. Contudo, a visualização da distribuição de animais positivos evidencia a existência de áreas com concentração aparentemente elevada de casos de thelaziose bovina, em especial nos concelhos de Portalegre, Castelo de Vide e Grândola. Esta disposição sugere uma ocorrência de casos não aleatória, que aliás foi confirmada pela análise espacial onde foram detectados dois agregados com excesso de casos observados indicativos de uma maior exposição ao risco de infecção de animais nestas zonas.

Os agregados originados no modelo puramente espacial coincidem com os concelhos supra mencionados, sendo que a área de maior risco foi representada para ambos na forma de círculos centrados numa das explorações em estudo. Este tipo de representação apresenta limitações se a dispersão de casos ocorrer em formatos longos e estreitos no espaço, situação em que identifica aglomerados tendencialmente maiores do que são na realidade (Kulldorff, 2010). Mantendo esta possibilidade em aberto, não deve ser realizada uma leitura rígida dos limites representados para cada área de risco. Serão necessários dados adicionais destas áreas para poder refutar ou confirmar as delimitações aqui evidenciadas.

Não obstante, o agregado primário em Portalegre representa a zona de mais elevado risco de thelaziose em bovinos. Os concelhos nele inseridos (Portalegre, Marvão e Castelo de Vide) contêm 42,9% (n=12) do total de casos observados no estudo, sendo que os bovinos nestas zonas apresentam um risco aproximadamente treze vezes superior de adquirirem a parasitose que animais habitantes de outros concelhos. A presença de uma extensa massa montanhosa associada a relatos da literatura consultada podem explicar em parte o maior risco detectado, pela existência de características que favorecem o desenvolvimento de vectores muscídeos e consequentemente a transmissão do agente etiológico entre bovinos. Alguns trabalhos indicam um acréscimo de incidência de thelaziose em zonas de planície arborizada e submontanha, e ainda zonas de floresta e vegetação grosseira com arbustos (Kennedy, 1993; Zubairova e Ataev, 2010). A Serra de São Mamede abrange 4 concelhos de Portalegre (Castelo de Vide, Marvão, Portalegre e Arronches), sendo o maior acidente geográfico a sul do Tejo chegando a atingir 1025m e constituindo uma barreira orográfica de condensação que leva a níveis de precipitação superiores às zonas circundantes. Incluída no Parque Natural da Serra de São Mamede apresenta como vegetação de base na sua maioria comunidades arbustivas (matos arborescentes, giestais, charais com urzes, charais com tojos, urzais e sargaçais) e comunidades herbáceas (Instituto da Conservação da Natureza e da Biodiversidade, 2009). Assim verifica-se a existência de condições ambientais favoráveis à manutenção de uma população muscídea justificativa de um risco superior de thelaziose nesta área.

Quanto ao agregado secundário, este inclui três concelhos de Setúbal (Santiago do Cacém, Grândola e Alcácer do Sal) e parte do concelho de Ferreira do Alentejo. Apesar de representar uma área superior ao agregado primário os bovinos desta zona apresentam um risco de parasitose inferior, revelando ainda assim um risco onze vezes superior comparativamente a bovinos da restante região em estudo. O agregado incluiu 21,4% (n=6) do total de casos observados no estudo, sendo que mais uma vez está presente uma massa montanhosa na região, a Serra de Grândola atingindo uma altura máxima de 371m (Diciopédia 2003, 2002).

## **4.2 Sistemas de produção**

O estudo de factores de risco não individuais associados a thelaziose bovina foi simplificado pela utilização do rebanho ou exploração como unidade de interesse. Neste contexto, é importante ter em conta a amostragem de cada exploração, através do cálculo da Sensibilidade (HSe) e Especificidade (HSp) do exame ao nível do rebanho, quando é realizada a classificação das explorações como positivas ou negativas.

O Alentejo é uma região tradicionalmente vocacionada para a produção de carne em regime extensivo, apesar de difíceis condições de pastoreio que preconizam o uso na Fase Mãe de bovinos autóctones mais rústicos. Contudo, a obtenção de carne para comercialização baseia-se na criação de animais jovens cujo ritmo de crescimento vai depender da genética e sistema de produção da linha filho, que se pode dividir em: tipo intensivo (12 a 18 meses), tipo semi-intensivo (18 a 30 meses) e tipo extensivo (mais de 3 anos) (Rodrigues, 1997). Para parte das explorações em estudo não foi possível determinar o sistema de produção e nas restantes não ocorreu uma associação estatística com a presença de *Thelazia* spp. em bovinos. Todavia, encontra-se patente uma tendência para índices de infecção superiores em sistemas intensivos. Uma noção algo contraditória considerando que se trata de animais jovens com menor oportunidade de infecção ao longo da sua vida comparativamente com bovinos adultos (Aken *et al.*, 1996; Otranto e Traversa, 2005). Contudo, diferenças de manejo entre sistemas extensivos e intensivos podem estar na origem desta propensão, ao condicionarem a distribuição e abundância de vectores. O sistema intensivo obriga a uma maior densidade animal por área disponível com consequente produção elevada de esterco (Rodrigues, 1997). São assim reunidas condições favoráveis à transmissão de *Thelazia*, resumidas por Kennedy (1993): uma baixa dispersão de animais, igualmente baixa dispersão de moscas e condições favoráveis ao estabelecimento de uma população de muscídeos. A disseminação de *Thelazia* spp. em bovinos encontra-se dependente da existência de muscídeos vectores (O'Hara e Kennedy, 1991; Kennedy, 1993), assim uma baixa dispersão de animais vai facilitar a infecção de moscas e consequente infecção de HD. Todavia serão necessários mais dados para comprovar ou refutar a tendência observada no presente trabalho.

Contrariamente, animais em sistemas extensivos apresentam um regime alimentar constituído, preferencialmente, por pastagens e forragens suplementares em épocas de escassez de pastagens. Na região do Alentejo as pastagens dividem-se entre espaços abertos e espaços de montado (de sobro ou de azinho), onde os encabeçamentos rondam as 0,3 cabeças normais por hectare (Rodrigues, 1997; Fernandes *et al.*, 2005). Nestas condições a dispersão dos bovinos será um factor protector contra a ocorrência de thelaziose, tal como a utilização de pastagens abertas de erva rasteira e média onde o esterco pode secar antes das larvas de mosca completarem o seu desenvolvimento (Kennedy, 1993; Campbell, 1994).

### **4.3 Factores de risco geo-climáticos**

Actualmente existem várias metodologias que permitem estimar potenciais áreas de distribuição geográfica ou conjuntos de habitats favoráveis a uma determinada espécie, com

base no conhecimento da sua ocorrência em conjunto com variáveis ambientais ou espaciais. A Modelação de Nichos Ecológicos está incluída nestas metodologias e tem vindo a ser muito aplicada em estudos ecológicos nos últimos vinte anos (Soberón e Nakamura, 2009), pelo que poderia ser um método alternativo à abordagem utilizada neste trabalho. Contudo, permanece a possibilidade de os dados obtidos no presente trabalho não representarem todos os gradientes ambientais relevantes para a thelaziose bovina e por conseguinte não permitirem prever a real distribuição da parasitose (Elith e Leathwick, 2009).

No contexto do presente trabalho, mostrou-se interessante traçar um retrato ambiental da parasitose e indirectamente dos seus vectores no âmbito das explorações estudadas na região Alentejana. Assim, foi analisado um perímetro de 5km em redor de cada exploração com o objectivo de representar a área de acção de vectores muscídeos existentes. A área estabelecida será provavelmente excessiva tendo em conta que, apesar de as moscas terem capacidade para voar distâncias consideráveis, estas tendem a permanecer na vizinhança dos bovinos até 10 metros de locais de repouso dos animais (Pickens e Nafus, 1982, citados por Kennedy, 1993, p. 868; Zurek, 2004). Contudo, a região em estudo é marcada pela predominância de grandes propriedades com uma média de 60,6 hectares, utilizando amplas parcelas vedadas que os rebanhos percorrem em busca de alimento (Fernandes *et al.*, 2005; INE, 2006). Desta feita os vectores poderão ser obrigados a voar longas distâncias inter e intra-rebanhos, pelo que foi utilizado um valor verossímil da literatura consultada representativo da capacidade de voo das moscas e do habitat das explorações (Nazni *et al.*, 2005).

A ocupação de solo apresentou comprovada associação com a presença de espécies de *Thelazia*. Ainda que seja tentador tirar conclusões directas dos dados obtidos, estes devem ser averiguados de forma crítica. Enquanto os dados podem ser utilizados na criação de novas hipóteses de investigação quanto à ecologia da *Thelazia* spp. em bovinos, estes não devem ser tomados por evidências conclusivas quanto à associação entre uma classe de ocupação de solo e a ocorrência da parasitose ocular. Sabe-se que de entre os factores topográficos, as planícies arborizadas com zonas de floresta e vegetação grosseira de arbustos são invariavelmente associadas a zonas de maior prevalência de thelaziose bovina (Kennedy, 1993; Zubairova e Ataev, 2010). Analogamente, charnecas ou matos, floresta de folhosas, coníferas e mistas na vizinhança de explorações positivas mostraram ser significativas na região em estudo. A floresta de folhosas representa uma variante de alta densidade arbórea do montado típico Alentejano (de sobro ou de azinho) em que o copado cobre mais de 30% da área ou as espécies ocupam mais de 75% da superfície. A floresta de coníferas, principalmente de pinheiros, e mista de folhosas e coníferas terão uma densidade arborescente similar, enquanto as charnecas ou matos caracterizam-se por vegetação arbustiva de coberto baixo e cerrado.

Em comum, estas classes de ocupação de solo fornecem condições de sombra e humidade relativa favoráveis ao ciclo de vida da mosca nos trilhos de esterco dos bovinos (Campbell, 1994). Contudo, as zonas agrícolas com áreas naturais importantes parecem à primeira vista não se enquadrar nos dados bibliográficos consultados, os quais não referem zonas agrícolas de todo. A observação atenta da nomenclatura desta classe (em Anexo) demonstra, para além de terrenos aráveis, a presença de culturas permanentes (pomares, árvores de fruto, vinhas, plantas de baga), parcelas de floresta natural, pequenos planos de água e edifícios dispersos de aglomerados rurais ou explorações. Diante de fontes de sombra e água que hipoteticamente explicam a sua influência na população de vectores, há ainda a salientar a presença de frutos que poderá indiciar a intervenção de muscídeos comensais de fruta e secreções lacrimais na transmissão de thelaziose bovina, como aliás já foi relatado para espécies que parasitam canídeos (Campbell, 1994; Otranto e Traversa, 2005).

A distribuição geográfica da thelaziose bovina aparentemente não foi influenciada pela altitude das explorações e áreas circundantes. Tal situação parece contrariar o que vem sendo evidenciado nos últimos anos, visto que na Europa de Leste zonas de planície apresentam níveis de infecção superiores comparativamente a montanha (Világiová, citada por Kennedy, 1993; Zubairova e Ataev, 2010). Contudo, deve ser levado em conta que a região em estudo é caracterizada por peneplanícies apresentando dispersas massas montanhosas de baixa altitude. Assim, a altitude das explorações em estudo será tendencialmente uniforme não permitindo inferir quanto a altitudes associadas a um potencial risco superior de parasitose ocular.

De entre os factores climáticos em análise (precipitação e temperatura) apenas a temperatura revelou alguma associação estatística com o estatuto das explorações. Isoladamente, as quatro variáveis significativas apresentam uma variação de temperatura média entre explorações positivas e negativas inexpressiva, em que a variação de valores não foi superior a 1°C. Todavia, denota-se uma homologia das variáveis temperatura máxima do mês mais quente, temperatura média do trimestre mais seco e temperatura média do trimestre mais quente, indicativo da influência de temperaturas elevadas na população de vectores e de *Thelazia* em bovinos. Torna-se assim aparente uma diminuta influência das variáveis isoladas, a favor de um efeito sinérgico das mesmas com contribuição significativa para a parasitose. Aliás, a ocorrência de temperaturas elevadas foi evidenciada na análise como um factor protector contra a thelaziose bovina, apontando zonas de ambiente mais seco como desfavoráveis. A população de moscas será tendencialmente reduzida em tais zonas, devido à rápida secagem do esterco de animais antes das larvas de mosca conseguirem completar o seu desenvolvimento, reduzindo assim indirectamente a transmissão de *Thelazia* spp. a bovinos (Campbell, 1994).



## Capítulo 4 – Conclusão

A presente investigação em matadouro confirma a presença de thelaziose bovina em Portugal, em particular na região do Alentejo. A caracterização epidemiológica, geográfica e geoclimática permitem afirmar que:

- A prevalência de infecção em bovinos do Alentejo foi de 5,1% no período de estudo. A nível individual, a prevalência de thelaziose tendeu a aumentar com a idade do animal, sendo significativamente superior em animais adultos ( $\geq 12$  meses) comparativamente a jovens ( $< 12$  meses). Enquanto o sexo e a raça não influenciaram a ocorrência de parasitose.
- A espécie mais representada nas recolhas realizadas foi a *Thelazia rhodesi*. Apenas quatro nemátodes apresentaram características morfológicas não compatíveis com adultos de *T. rhodesi*, permanecendo algumas dúvidas quanto ao seu estatuto como larvas imaturas ou indivíduos de outras espécies (*T. gulosa* e *T. skrjabini*). Nesta situação a aplicação de técnicas moleculares poderia ser muito útil, fornecendo resultados fidedignos quanto à espécie em questão.
- A presença de nemátodes não foi associada à existência de lesões oculares. Assim, conclui-se que a thelaziose bovina será tendencialmente assintomática ou subclínica nos bovinos da região do Alentejo. As lesões oculares mais prevalentes foram o lacrimejar, ulceração e opacidade corneal, encontrando-se patente um acréscimo significativo de lesões no final do Inverno e Primavera. O possível aparecimento de uma nova população de moscas e, conseqüentemente, de formas imaturas de *Thelazia* spp. no final do período em estudo pode ter motivado o surgimento de lesões sem observação de nemátodes. Assim, para uma melhor compreensão da relação entre *Thelazia* e lesões oculares seria importante realizar novos estudos que englobassem o restante período do ano ou decorressem ao longo de um ano completo.
- A associação estatística entre o mês e a parasitose sugere uma aparente sazonalidade da thelaziose bovina ( $p < 0,05$ ). No presente estudo a prevalência máxima de infecção foi obtida no final do Outono (18,5%) e a mínima na Primavera (0,7 e 0,8%).
- A distribuição geoespacial dos bovinos examinados encontra-se integrada na região em estudo. Animais pertencentes aos concelhos de Portalegre, Marvão e Castelo de Vide apresentaram um risco relativo de infecção treze vezes superior a animais de outras proveniências. Similarmente, nos concelhos de Santiago do Cacém, Grândola, Alcácer do

Sal e parte do concelho de Ferreira do Alentejo o risco relativo de infecção foi 11 vezes superior à restante região.

- Aparentemente zonas de ambiente seco e quente serão desfavoráveis à população muscídea potencial hospedeira intermediária da parasitose. Não obstante, os vectores de *Thelazia* spp. favorecem ambientes arborizados e pastagens de vegetação arbustiva cerrada. A presença de terrenos aráveis com pequenos planos de água, edifícios rurais ou explorações e culturas permanentes (pomares, árvores de fruto, vinhas, plantas de baga) são igualmente propícios à presença de vectores. Os resultados do presente trabalho permitem apontar alguns insectos como potenciais vectores de *Thelazia* spp., contudo a determinação exacta dos mesmos implica investigação adicional neste âmbito.

Em suma, foram alcançados os objectivos iniciais. A presença de *Thelazia* spp. em Portugal sugere a necessidade de incluir este parasita no diagnóstico diferencial de doenças oculares em bovinos. Neste sentido, a caracterização da thelaziose bovina vem melhorar a compreensão da sua epidemiologia e permitir o estabelecimento de medidas profiláticas e terapêuticas adequadas contra a thelaziose ocular.

## Referências bibliográficas

- Aiello, S. E. e Moses, M. A. (2012). The Merck Veterinary Manual Online. Acedido em Ago. 23, 2012, disponível em: <http://www.merckmanuals.com/vet/index.html>
- Aken, D. V.; Dargantes, A. P.; Lagapa, J. T. e Vercruysse, J. (1996). *Thelazia rhodesii* (Desmarest, 1828) infections in cattle in Mindanao, Philippines. Veterinary parasitology, 66, 125-129.
- Anderson, R. C. (2000). Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission. (2ª ed.). Oxon: CABI Publishing.
- Arbuckle, J. B. e Khalil, L. F. (1978). A survey of *Thelazia* worms in the eyelids of British cattle. Veterinary record, 102(10), 207-210.
- Associação de Criadores Limousine (2011). Os 5 sentidos dos bovinos. ACL Noticias Limousine, 19, 14 – 15.
- Bowman, D. D. (1999). Georgis' Parasitology for Veterinarians, 7ª edição. EUA: W. B. Saunders Company.
- Campbell, J. B. (1994). G94-1204 Face fly control guide. Historical Materials from University of Nebraska-Lincoln Extension, Paper 1160. Acedido em Jul. 17, 2012, disponível em: <http://digitalcommons.unl.edu/extensionhist/1160>
- Carta administrativa Oficial de Portugal (2012). CAOP 2012.0. Acedido em Maio 8, 2012, disponível em: [http://www.igeo.pt/produtos/cadastro/caop/caop\\_vigor.htm](http://www.igeo.pt/produtos/cadastro/caop/caop_vigor.htm)
- Centers for Disease Control and Prevention (2004). Parasites and Health. Acedido em Out. 18, 2011, disponível em: <http://dpd.cdc.gov/dpdx/>
- Chaignaud, M. (1828). Worms in the eyes of oxen. The veterinarian, a monthly Journal of Veterinary Science, 1, 77-81.
- Chief Directorate (2009). Introducing gis worksheets for teachers and learners. Acedido em Maio 8, 2012, disponível em: <http://linfiniti.com/dla/>
- Christensen, J. e Gardner, I. (2000). Herd-level interpretation of test results for epidemiologic studies of animal diseases. Preventive Veterinary Medicine, 45, 85-106.
- Decreto-Lei nº 142/2006 de 27 de Julho. Diário da República nº 144 – 1ª Série. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa.
- Deepthi, B. e Yalavarthi, Y. (2012). Eye worm infection in a Cattle – A case report. Veterinary World, 5(4), 236-237.
- Diciopédia 2003 (2002). Diciopédia 2003 – O Poder do Conhecimento. [DVD]. Lisboa: Porto Editora Multimédia.

- Dictionnaire des Sciences Naturelles, Vol.53 (1828). Paris: F. G. Levrault.
- Elith, J. e Leathwick, J. R. (2009). Species Distribution Models: Ecological Explanation and Prediction Across Space and Time. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40, 677-697.
- European Environment Agency (2009). Corine Land Cover, versão 13 (05/2005). Acedido em Jun. 15, 2012, disponível em: <http://www.eea.europa.eu/data-and-maps/data/corine-land-cover-2000-clc2000-100-m-version-12-2009>
- Euzéby, J. (1961). Les Maladies Vermineuses des Animaux Domestiques et leurs Incidences sur la Pathologie Humaine, Vol. 1. Paris : Vigot Frères Éditeurs.
- Faunalia (2010). Workshop QGIS / GRASS – Software SIG Open Source. Lisboa: III SASIG.
- Fernandes, J. P.; Moreira, M. B.; Coelho, I. S.; Guimar, N. e Brito, O. (2005). Caracterização e cartografia dos Sistemas Extensivos de Pastoreio em Portugal Continental. Évora: Projecto LACOPE.
- Floate, K. D.; Spooner, R. W. e Colwell, D. D. (2001). Larvicidal activity of endectocidas against pest flies in the dung of treated cattle. *Medical and Veterinary Entomology*, 15(1), 117-120.
- Freksa, C. e Barkowsky, T. (1996). On the relation between Spatial Concepts and Geographic Objects. London: Taylor & Francis.
- Geden, C. J. e Stoffolano, J. G. (1980). Bovine thelaziasis in Massachusetts. *The Cornell Veterinarian*, 70(4), 344-359.
- Geden, C. J. e Stoffolano, J. G. (1981). Geographic range and temporal patterns of parasitization of *Musca autumnalis* (Diptera: Muscidae) by *Thelazia* sp. (Nematoda: Spirurata) in Massachusetts, with observations on *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) as an unsuitable intermediate host. *Journal of Medical Entomology*, 18(6), 449-456.
- Geden, C. J. e Stoffolano, J. G. (1982). Development of the bovine eyeworm, *Thelazia gulosa* (Railiet and Henry), in experimentally infected, female *Musca autumnalis* de Geer. *Journal of Parasitology*, 68(2), 287-292.
- Gelatt, K. N. (2007). *Veterinary Ophthalmology*, Vol. 1. (4º ed.). Iowa: Blackwell Publishing.
- Getty, R. (1986). Sisson/Grossman - Anatomia dos animais domésticos, Vol. 1. (5º ed.). Brasil: Guanabara Koogan.
- Ghirotti, M. e Iliamupu, D. S. (1989). *Thelazia rhodesii* (Desmarest, 1828) in cattle of Central Province, Zambia. *Parassitologia*, 31(2-3), 231-237.

- Giangaspero, A.; Otranto, D.; Vovias, N. e Puccini, V. (2000). *Thelazia gulosa* Railliet & Henry, 1910 and *T. skrjabini* Erschow, 1928 infection in southern Europe (Italy). *Parasite*, 7(4), 327-329.
- Giangaspero, A.; Traversa, D. e Otranto, D. (2004). Ecology of *Thelazia* spp. in cattle and their vectors in Italy. *Parassitologia*, 46(1-2), 257-259.
- Global Biodiversity Information Facility (2011). Free and open access to biodiversity data GBIF. Acedido em Jun. 23, 2012, disponível em: <http://data.gbif.org>
- Gloobe, H. (1989). Anatomia aplicada del bovino. Costa Rica: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura.
- Gorgot, C. R. L. (1947). Helminthos de los Vertebrados Ibéricos, Vol. II. Granada: Instituto Nacional de Parasitología de Granada.
- GRASS (2012). Geograpic Resources Analysis Support System. Acedido em Jun. 15, 2012, disponível em: <http://grass.osgeo.org>
- Gupta, N. K. e Kalia, D. C. (1978). On nematodes of some live-stock animals in Índia, Parte I. *Revista Ibérica Parasitologia*, 38 (1,2), 35-61.
- Houe, H.; Ersbøll, A. K. e Toft, N. (2004). Introduction to Veterinary Epidemiology (1ª ed.). Dinamarca: Biofolia.
- Instituto da Conservação da Natureza e da Biodiversidade (2009). Parque Natural da Serra de São Mamede – Plano Prévio de Intervenção em Incêndios Rurais 2009. Portalegre: ICNB.
- Instituto de Financiamento da Agricultura e Pescas (2012). Manual de Procedimentos – SNIRA. Lisboa: IFAP.
- Instituto Geográfico Português (2007). M@pas online. Acedido em Fev. 17, 2012, disponível em: <http://mapas.igeo.pt/>
- Instituto Nacional de Estatística (2006). Inquérito à estrutura das Explorações Agrícolas 2005. Lisboa: INE.
- Jordano, D. (1945). Primeros casos de conjunctivitis verminosa en terneros, debidos a la “*Thelazia rhodesi*” (Desmarest, 1827). *Zootecnia* VI (11-12), 28-31.
- Kaufmann, J. (1996). Parasitic Infections of Domestic Animals – A Diagnostic Manual. Berlin: Birkhäuser Verlag.
- Kennedy, M. J. (1993). Prevalence of eyeworm (Nematoda: thelazioidea) in beef cattle grazing different range pasture zones in Alberta, Canada. *Journal of Parasitology*, 79(6), 866-869.

- Kennedy, M. J. (1994). The effect of treating beef cattle on pasture with ivermectin on the prevalence and intensity of *Thelazia* spp. (Nematoda: Thelazioidea) in the vector, *Musca autumnalis* (Diptera: Muscidae). *Journal of Parasitology*, 80(2), 321-326.
- Kennedy, M. J. e MacKinnon, J. D. (1994). Site segregation of *Thelazia skrjabini* and *Thelazia gulosa* (Nematoda: Thelazioidea) in the eyes of cattle. *Journal of Parasitology*, 80(4), 501-504.
- Kennedy, M. J. e Moraiko, D. (1987). The eyeworm, *Thelazia skrjabini*, in cattle in Canada. *The Canadian Veterinary Journal*, 28, 254-255.
- Kennedy, M. J. e Phillips, F. E. (1993). Efficacy of doramectin against eyeworms (*Thelazia* spp.) in naturally and experimentally infected cattle. *Veterinary Parasitology*, 49(1), 61-66.
- Kennedy, M. J.; Holste, J. E. e Jacobsen, J. A. (1994). The efficacy of ivermectin (pour-on) against the eyeworms, *Thelazia gulosa* e *Thelazia skrjabini* in naturally infected cattle. *Veterinary Parasitology*, 55(3), 263-266.
- Kennedy, M. J.; Moraiko, D. T e Goonewardene, L. (1990). A study on the prevalence and intensity of occurrence of *Thelazia skrjabini* (Nematoda: Thelazioidea) in cattle in Central Alberta, Canada. *Journal of Parasitology*, 76(2), 196-200.
- Kennedy, M. J.; Moraiko, D. T. e Treichel, B. (1993). First report of immature *Thelazia skrjabini* (Nematoda: Thelazioidea) from the eye of a White-tailed deer, *Odocoileus virginianus*. *Journal of Wildlife Diseases*, 29(1), 159-160.
- Klesov, M. D. (1950). Contribution to the biology of two nematodes of the genus *Thelazia* Bosc 1819, parasites of cattle. *Doklady Akademii nauk SSSR*, 75(4), 591-594.
- Klesov, M. D. (1953). A study of the epizootiology of thelaziasis in cattle. *Papers on helminthology presented to academician K. I. Skrjabini on his 75<sup>th</sup> birthday*, 313-316.
- Krafsur, E. S. e Church, C. J. (1985). Bovine thelaziasis in Iowa. *Journal of Parasitology*, 71(3), 279-286.
- Krafsur, E. S. e Moon, R. D. (1997). Bionomics of the face fly, *Musca autumnalis*. *Annual Review of Entomology*, 42, 503-523.
- Kulldorff, M. (2010). SaTScan User Guide for version 9.0. Acedido em Jun. 17, 2012, disponivel em: <http://www.satscan.org/>
- Ladouceur, C. A. e Kazacos, K. R. (1981). Eye worm in cattle in Indiana. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 178(4), 385-387.
- Lee, C. A. (1840). An account of a Filaria in a Horse's eye, with remarks on similar phenomena, and the mode of their origin. *The American Journal of Science and Arts*, 39, 278-295.

- Marley, S. E.; Illyes, E. F.; Keller, D. S.; Meinert, T. R.; Logan, N. B.; Hendrickx, M. O. e Conder, G. A. (1999). Efficacy of topically administered doramectin against eyeworms, lungworms, and gastrointestinal nematodes of cattle. *American Journal of Veterinary Research*, 60(6), 665-668.
- Miller, P. E e Campbell, B. G. (1992). Subconjunctival cyst associated with *Thelazia gulosa* in a calf. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 201(7), 1058-1060.
- Moolenbeek, W. J. e Surgeoner, G. A. (1980). Southern Ontario survey of eyeworms, *Thelazia gulosa* and *Thelazia lacrymalis* in cattle and larvae of *Thelazia* spp. In the face fly, *Musca autumnalis*. *The Canadian Veterinary Journal*, 21, 50-52.
- Munang'andu, H. M.; Chembensofu, M.; Siamudaala, V. M.; Munyeme, M. e Matandiko, W. (2011). *Thelazia rhodesii* in the African Buffalo, *Syncerus caffer*, in Zâmbia. *Korean Journal of Parasitology*, 49(1), 91-94.
- Naem, S (2007a). Fine structure of body surface of *Thelazia skrjabini* (Nematoda: Spirurida, Thelaziidae), 100, 305-310.
- Naem, S (2007b). Morphological differentiation among three *Thelazia* species (Nematoda: Thelaziidae) by scanning electron microscopy, 101, 145-151.
- Naem, S (2007c). *Thelazia rhodesi* (Spirurida, Thelaziidae), bovine eyeworm: morphological study by scanning electron microscopy, 100, 855-860.
- Nazni, W. A.; Luke, H. ; Wan Rozita, W. M. ; Abdullah, A. G.; Sa'diyah, I; Azahari, A. H.; Zamree, I.; Tan, S. B.; Lee, H. L. e Sofian, M. A. (2005). Determination of the flight range and dispersal of the house fly, *Musca domestica* (L.) using mark release recapture technique. *Tropical Biomedicine*, 22(1), 53-61.
- Néry, F. (2007). Nomeclatura CORINE Land Cover: versão portuguesa comentada. Lisboa: Instituto Geográfico Portugues.
- Neveu-Lemaire, M. (1936). *Traité d'helminthologie médicale et vétérinaire*. Paris: Vigot Frères éditeurs.
- NP 776 (1983). Norma Portuguesa para bovinos de consumo: terminologia. Direcção-Geral da Qualidade, Ministerio da Industria, Energia e Exportação. Lisboa.
- O'Hara, J. E. e Kennedy, M. J. (1991). Development of the nematode eyeworm, *Thelazia skrjabini* (Nematoda: Thelazidea), in experimentally infected face flies, *Musca autumnalis* (Diptera: Muscidae). *Journal of Parasitology*, 77(3), 417-425.
- Otranto, D. e Dutto, M. (2008). Human Thelaziasis, Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 14(4), 647-649.

- Otranto, D. e Traversa, D. (2004). Molecular characterization of the first internal transcribed spacer of ribosomal DNS of the most common species of eyeworms (Thelazioidea: *Thelazia*). *Journal of Parasitology*, 90(1), 185-188.
- Otranto, D. e Traversa, D. (2005). *Thelazia* eyeworm: an original endo- and ecto-parasitic nematode. *Trends in parasitology*, 21(1), 1-4.
- Otranto, D.; Ferroglio, E.; Lia, R. P.; Traversa, D e Rossi, L. (2003). Current status and epidemiological observation of *Thelazia callipaeda* (Spirurida, Thelaziidae) in dogs, cats and foxes in Italy: a “coincidence” or a parasitic disease of the Old Continent?. *Veterinary Parasitology*, 116, 315-325.
- Otranto, D.; Tarsitano, E; Traversa, D.; Giangaspero, A.; De Luca, F. e Puccini, V. (2001). Differentiation among three species of bovine *Thelazia* (Nematoda: Thelaziidae) by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism of the first internal transcribes spacer ITS-1 (rDNA). *International Journal for Parasitology*, 31, 1693-1698.
- Petrov, A. M.; Gaibov, A. D. e Gagarin, V. G. (1940). Ocular thelaziosis in cattle. *Veterinariya*, 5, 75-87.
- Projecto R (2012). The R project for statistical computing. Acedido em Maio 8, 2012, disponível em: <http://www.r-project.org/>
- Quantum GIS (2012). Quantum GIS Project. Acedido em Maio 8, 2012, disponível em: <http://www.qgis.org/>
- Railliet, A. (1916). La Famille des Thelaziidae. *The Journal of Parasitology*, Vol. 2, No. 3, pp. 99-105. EUA: The American Society of Parasitologists.
- Regulamento (extrato) nº 183/2012 de 22 de Maio. Diário da República nº 99 – 2ª Série. Universidade Técnica de Lisboa – Faculdade de Medicina Veterinária. Lisboa.
- Roberts, L. S. e Janovy, J. (2009). Gerald D. Schmidt & Larry S. Roberts’ *Foundations of Parasitology*. (8ª ed.). Lisboa: McGraw-Hill.
- Rodrigues, A. M. (1997). *Sistemas de Produção de Bovinos de Carne em Portugal*. Castelo Branco: Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Castelo Branco.
- Salifu, D. A.; Haruna, E. S.; Makinde, A. A. e Ajayi, S. T. (1990). A case report of *Thelazia* infection in a 15-month old heifer in Vom, Plateau State, Nigeria. *Revue d’Élevage et de Médecine Vétérinaire des pays tropicaux*, 43(2), 197-198.
- SaTScan (2005). SaTScan – Software for the spatial, temporal, and space-time scan statistics. Acedido em Jul. 16, 2012, disponível em: <http://www.satscan.org/>



- Soberón, J. e Nakamura, M. (2009). Niches and distributional áreas: Concepts, methods, and assumptions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(2), 19644-19650.
- Soll, M. D.; Carmichael, I. H.; Scherer, H. R. e Gross, S. J. (1992). The efficacy of ivermectin against *Thelazia rhodesii* (Desmarest, 1828) in the eyes of cattle. *Veterinary Parasitology*, 42, 67-71.
- Tobler, W. (1970). A computer movie simulating urban growth in the Detroit region. *Economic Geography*, 46(2), 234-240.
- Tweedle, D. M.; Fox, M. T.; Gibbons, L. M. e Tennant, K. (2005). Changes in the prevalence of *Thelazia* species in bovine eyes in England. *The Veterinary Record*, 157, 555-556.
- Urquhart, G. M.; Armour, J.; Duncan, J. L. ; Dunn, A. M. e Jennings, F. W. (1998). *Parasitologia Veterinária*. (2º ed.). Brasil: Guanabara Koogan.
- Van Aken, D.; Dargantes, A. P.; Lagapa, J. T. e Vercruysse, J. (1996). *Thelazia rhodesii* (Desmarest, 1828) infections in cattle in Mindanao, Philippines. *Veterinary Parasitology*, 66, 125-129.
- Vieira, L; Rodrigues, F. T.; Costa, A.; Diz-Lopes, D.; Machado, J.; Coutinho, T.; Tuna, J.; Latrofa, M. S.; Cardoso, L. e Otranto, D. (2012). First report of canine ocular thelaziosis by *Thelazia callipaeda* in Portugal. *Parasites & Vectors*, 5, 124.
- World Health Organization (2010). Houseflies. Acedido em Ago. 4, 2012, disponível em: [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/resources/vector302to323.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/resources/vector302to323.pdf)
- WorldClim (2011). WorldClim – Global Climate Data. Acedido em Jun. 20, 2012, disponível em: <http://www.worldclim.org/tiles.php?Zone=15>
- Zubairova, M. M. e Ataev, A. M. (2010). Fauna and distribution of nematodes from the suborders spirurata and filariata parasitizing cattle in Dagestan, from the perspective of vertical zoning. *Parazitologiya*, 44(6), 525-530.
- Zurek, L. (2004). Face fly – *Musca autumnalis*. Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative extension Service.

## Anexos

### 1. Técnica de exame ocular de bovinos no Matadouro de Sousel

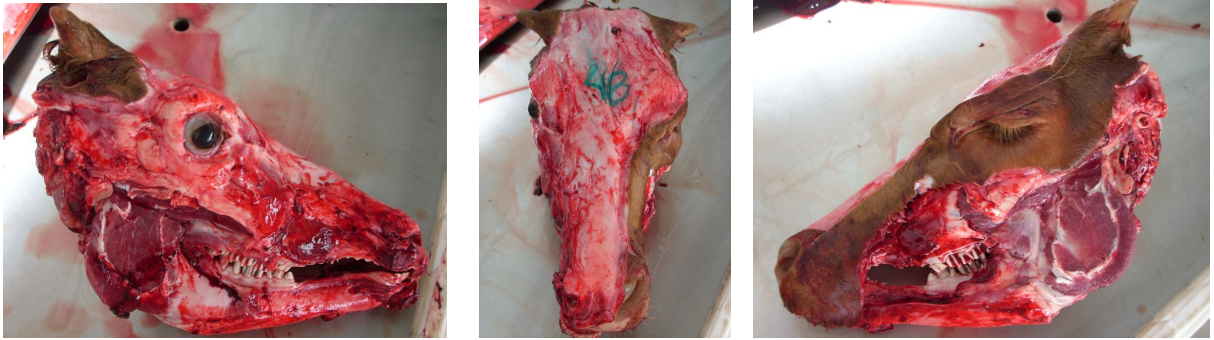


Figura 22: Cabeça de bovino; vista lateral direita, craneal e lateral esquerda.

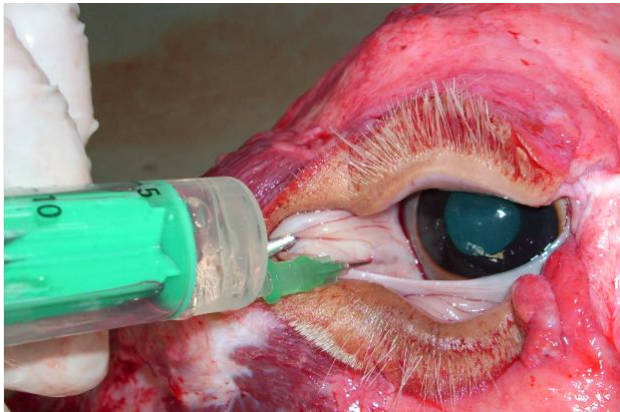


Figura 23: Introdução de solução aquosa nos principais ductos da glândula Harderiana do olho Esq.

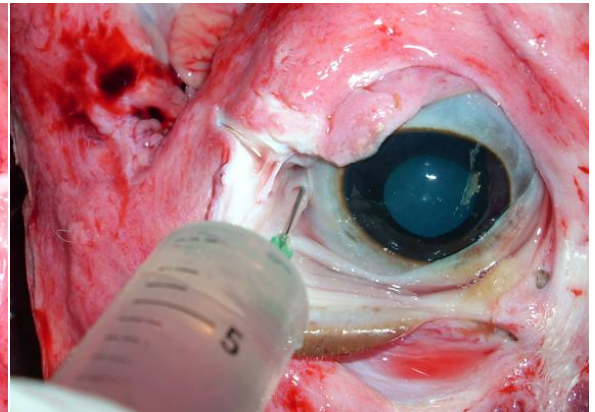


Figura 24: Introdução de solução aquosa nos principais ductos da glândula Lacrimal do olho Dir.

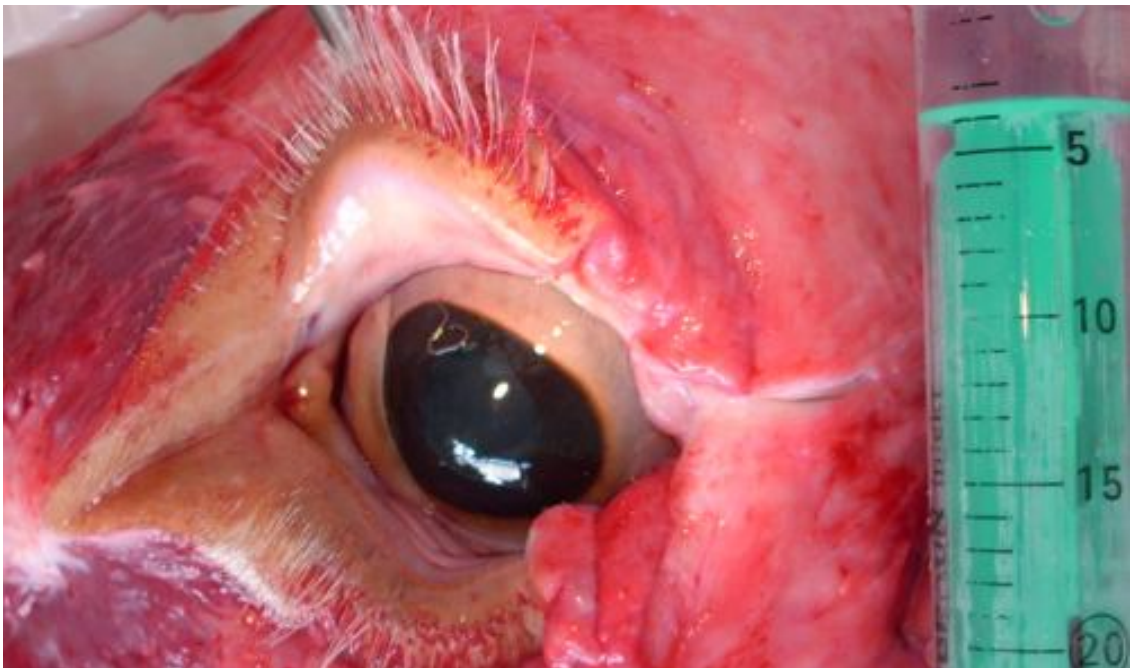


Figura 25: Nemátode de *Thelazia* spp. no olho Esq. de um bovino.

## 2. Impressos (modelos de declarações) que constituíram a base de dados

Ministério da Agricultura,  
Mar, Ambiente e  
Ordenamento do Território

DGV  
Direção-Geral  
de Veterinária

**PASSAPORTE DE BOVINO**

00000108 / 2

**Identificação do detentor**

250 000 075

RUI COELHO VII

R. FERNANDO C. RIBEIRO, 4-G  
LISBOA  
1649 - 034 LISBOA

**Identificação do bovino**

PT 0 40 611 594

Data Nasc.: 1999-01-23 Sexo: F

Raça: FRISIA  
Cor: BRANCO  
Id. Mat: PT 4 351 364  
Id. Pat:  
Id. Particular:  
Origem: PORTUGAL

**Exploração**

MC10J  
QUINTA DA BELA VISTA  
LUGAR DE CIMA  
6420 - 782 VILA GARCIA TCS  
Data de entrada: 2012-01-01  
Classificação Sanitária / Estatuto Sanitário:  
T3 / B3 / L4 / INDEMN

**Registos de detenção e movimentos**

Data	Marca da Exploração	Assinatura	Data	Marca da Exploração	Assinatura
1 1999-01-23	MC09E		13		
2 2012-01-01	MC10J		14		
3			15		
4			16		
5			17		
6			18		
7			19		
8			20		
9			21		
10			22		
11			23		
12			24		

**Observações:**

Direção-Geral de Veterinária

Mod. nº 241-B / DGV

€ 1,00 Despacho nº 19827 / 2008 (2ª série) de 25 de Julho

AZ- 000 000

Figura 26: Rosto do novo modelo do Passaporte de Bovino (já com dados de um bovino).  
(Fonte: Instituto de Financiamento da Agricultura e Pescas, 2012)

N.º Série: 0000108 / 2

**Avertamentos Oficiais**

**Informação Sanitária**

Data (DMA)	Estado Sanitário / Classif. Sanitária	Rubrica e Carimbo do MV	Data (DMA)	Estado Sanitário / Classif. Sanitária	Rubrica e Carimbo do MV
1			13		
2			14		
3			15		
4			16		
5			17		
6			18		
7			19		
8			20		
9			21		
10			22		
11			23		
12			24		

**Passaporte expedido por**

Atividade: IFAP	Data: 2012-01-04	Observações/ Avertamentos:
Carimbo:	Assinatura:	

**Figura 27: Verso do novo modelo do Passaporte de Bovino (já com dados).**  
(Fonte: Instituto de Financiamento da Agricultura e Pescas, 2012)





### 3. Descrição de bovinos parasitados por *Thelazia* spp.

Tabela 22: Descrição de bovinos parasitados por *Thelazia* spp. observados no Matadouro Regional de Souel (Novembro de 2011 a Maio de 2012).

Data de exame	*	Idade (meses)	Gênero	Raça	Sistema de produção	Lesões oculares	Nº nematodos no olho Dir.	Nº nematodos no olho Esq.	Espécie de <i>Thelazia</i>
15-11-2011	3	13	M	Cruzada	Intensivo	-	1	1	<i>T. rhodesi</i>
15-11-2011	4	16	M	Cruzada	Intensivo	-	2	2	<i>T. rhodesi</i>
29-11-2011	4	14	M	Cruzada	Intensivo	-	0	1	<i>T. rhodesi</i>
29-11-2011	18	14	F	Cruzada	Desconhecida	-	0	2	<i>T. rhodesi</i>
29-11-2011	19	14	F	Cruzada	Desconhecida	-	0	1	<i>T. rhodesi</i>
06-12-2011	17	16	M	Cruzada	Desconhecida	-	1	0	<i>T. rhodesi</i>
06-12-2011	23	80	F	Cruzada	Desconhecida	-	0	1	<i>T. rhodesi</i>
27-12-2011	7	19	F	Cruzada	Desconhecida	-	3	4	<i>T. rhodesi</i>
16-01-2012	3	12	M	Cruzada	Intensivo	Conjuntivite	3	4	<i>T. rhodesi</i> + Ind. 1
16-01-2012	4	19	M	Cruzada	Desconhecida	-	4	0	<i>T. rhodesi</i>
23-01-2012	1	14	M	Cruzada	Intensivo	-	1	6	<i>T. rhodesi</i> + Ind. 4
08-02-2012	4	7	F	Cruzada	Extensivo	-	0	1	<i>T. rhodesi</i>
08-02-2012	6	7	F	Cruzada	Extensivo	-	0	2	<i>T. rhodesi</i>
08-02-2012	50	169	F	Alentejana	Desconhecida	-	0	1	<i>T. rhodesi</i>
08-02-2012	52	183	F	Alentejana	Desconhecida	-	0	1	<i>T. rhodesi</i>
15-02-2012	7	5	M	Cruzada	Desconhecida	-	1	0	<i>T. rhodesi</i>
15-02-2012	24	9	M	Cruzada	Desconhecida	-	1	6	<i>T. rhodesi</i>
27-02-2012	13	15	M	Cruzada	Intensivo	-	1	0	<i>T. rhodesi</i>
27-02-2012	14	15	M	Cruzada	Intensivo	-	2	0	<i>T. rhodesi</i>
27-02-2012	16	14	M	Cruzada	Intensivo	-	1	0	<i>T. rhodesi</i>
07-03-2012	33	173	F	Alentejana	Desconhecida	-	1	3	<i>T. rhodesi</i>
07-03-2012	34	172	F	Alentejana	Desconhecida	-	0	1	<i>T. rhodesi</i>
07-03-2012	35	196	F	Alentejana	Desconhecida	-	4	2	<i>T. rhodesi</i>
07-03-2012	38	186	F	Alentejana	Desconhecida	-	0	1	<i>T. rhodesi</i>
26-03-2012	1	16	M	Cruzada	Intensivo	-	2	0	<i>T. rhodesi</i>
26-03-2012	4	7	F	Cruzada	Extensivo	-	0	2	<i>T. rhodesi</i>
26-03-2012	9	7	M	Cruzada	Extensivo	-	1	0	<i>T. rhodesi</i>
30-04-2012	29	7	F	Cruzada	Desconhecida	-	0	1	Indivíduo 3
23-05-2012	9	47	F	Cruzada	Desconhecida	-	1	0	Indivíduo 2

Legenda: M) Macho; F) Fêmea; \*) Nº de sequência de abate.

#### **4. Bioclim – variáveis bioclimáticas**

(Adaptado de WorldClim, 2010)

As variáveis bioclimáticas representam tendências anuais (por exemplo: temperatura média anual, precipitação anual), sazonalidade (por exemplo: amplitude térmica e precipitação anual) e factores ambientais extremos ou limitantes (por exemplo: temperatura do mês mais frio e mais quente, e precipitação do trimestre mais seco e húmido).

As variáveis são classificadas como:

BIO1 = Temperatura média anual

BIO2 = Amplitude média da temperatura diária (Média mensal (temp máx - temp min))

BIO3 = Isotermalidade (BIO2/BIO7) (\* 100)

BIO4 = Sazonalidade térmica (desvio padrão \*100)

BIO5 = Temperatura máxima do mês mais quente

BIO6 = Temperatura mínima do mês mais frio

BIO7 = Amplitude de temperatura anual (BIO5-BIO6)

BIO8 = Temperatura média do trimestre mais húmido

BIO9 = Temperatura média do trimestre mais seco

BIO10 = Temperatura média do trimestre mais quente

BIO11 = Temperatura média do trimestre mais frio

BIO12 = Precipitação anual

BIO13 = Precipitação do mês mais húmido

BIO14 = Precipitação do mês mais seco

BIO15 = Sazonalidade pluvial (Coeficiente de variação)

BIO16 = Precipitação do trimestre mais húmido

BIO17 = Precipitação do trimestre mais seco

BIO18 = Precipitação do trimestre mais quente

BIO19 = Precipitação do trimestre mais frio

## **5. Nomenclatura Corine Land Cover: versão Portuguesa comentada (2007)**

### **Classes de CLC**

#### Classe 1. Zonas Artificializadas

- 111. Tecido urbano contínuo
- 112. Tecido urbano descontínuo
- 121. Unidades industriais ou comerciais
- 122. Rede rodoviária ou ferroviária e zonas associadas
- 123. Zonas portuárias
- 124. Aeroportos
- 131. Zonas de extracção mineira
- 132. Zonas de depósito de resíduos industriais ou urbanos
- 133. Zonas de construção
- 141. Zonas verdes urbanas
- 142. Equipamentos de desporto ou lazer

#### Classe 2. Zonas agrícolas

- 211. Terras aráveis não irrigadas
- 212. Terras permanentemente irrigadas
- 213. Arrozais
- 221. Vinhas
- 222. Pomares de árvores de fruto ou de baga
- 223. Olivais
- 231. Pastagens
- 241. Culturas anuais associadas a culturas permanentes
- 242. Sistemas culturais e parcelares complexos
- 243. Zonas principalmente agrícolas com zonas naturais importantes
- 244. Zonas agro-florestais

#### Classe 3. Zonas florestais e semi-naturais

- 311. Florestas de folhosas
- 312. Floresta de coníferas
- 313. Florestas mistas de folhosas e coníferas
- 321. Prados naturais
- 322. Charnecas ou matos
- 323. Vegetação esclerófila



324. Floresta ou vegetação arbustiva de transição

331. Praias, dunas ou areais

332. Rocha nua

333. Zonas de vegetação esparsa

334. Zonas ardidas

335. Glaciares ou neves perpétuas

#### Classe 4. Zonas húmidas

411. Pântanos ou pauis

412. Turfeiras

421. Sapais

422. Salinas

423. Zonas intermareais

#### Classe 5. Corpos de água

511. Cursos de água

512. Planos de água

521. Lagoas costeiras

522. Estuários

523. Mar ou oceano

### **243. Zonas principalmente agrícolas com zonas naturais importantes**

Zonas ocupadas principalmente por agricultura, com zonas naturais de dimensão significativa.

Extensão:

Esta classe inclui zonas ocupadas pela agricultura que ocorram conjuntamente com zonas naturais e semi-naturais (incluindo zonas húmidas, corpos de água, etc.).

Esta classe inclui:

- Parcelas de terras aráveis, com área inferior à AMC.
- Parcelas de terras aráveis, com área inferior à AMC, com culturas permanentes, pomares, árvores de fruto, vinhas, plantas de baga.
- Parcelas com zonas remanescentes de florestas naturais, com área inferior à AMC, com vegetação arbórea e arbustiva.
- Planos de água de pequenas dimensões.

- Ocorrência esporádica de edifícios dispersos de aglomerados rurais ou explorações agrícolas.
- Estruturas lineares de árvores para produção de trufa.
- Hortas para produção de legumes frescos com sulcos de irrigação.
- Montes de pedras dispersos, resultantes da limpeza de campos agrícolas.

Esta classe exclui:

- Mosaicos de culturas anuais com pequenas parcelas de pomares ou olivais mas sem vegetação natural, a classificar como *sistemas culturais e parcelares complexos* (classe 242).
- Zonas em que a proporção de ocupações agrícolas (classes 21x, 22x e 23x) seja superior a 75%.
- Zonas em que a proporção de ocupações semi-naturais (classes 3xx) seja superior a 75%.



**Figura 29: Um padrão generalizado da classe 243 – Zonas principalmente agrícolas com zonas naturais importantes.**

Generalização:

- Pequenas zonas de floresta, com área inferior à AMC e que distem entre si menos de um limiar de 100 m, inclusas numa matriz de zonas agrícolas, são representadas utilizando uma envolvente construída sobre as zonas agrícolas ou preenchendo o espaço intersticial, de forma a obter uma zona com superfície superior à AMC, classificada como *zonas principalmente agrícolas com zonas naturais importantes* (classe 243) – desde que tanto a proporção de zonas florestais como a proporção de zonas agrícolas se situe entre os 25 e os 75%.<sup>83</sup>
- Pequenas zonas agrícolas (classe 2xx), com área inferior à AMC e que distem entre si menos de um limiar de 100 m, inclusas numa matriz de zonas florestais, são representadas utilizando uma envolvente construída sobre as zonas florestais ou preenchendo o espaço intersticial, de forma a obter uma zona com superfície superior à AMC, classificada como

zonas principalmente agrícolas com zonas naturais importantes (classe 243) – desde que tanto a proporção de zonas florestais como a proporção de zonas agrícolas se situe entre os 25 e os 75%.

### **311. Florestas de folhosas**

Vegetação constituída principalmente por árvores, incluindo estratos arbustivos, com predomínio de espécies de folhosas.

Extensão:

Esta classe inclui zonas florestais em que o copado cobre mais de 30% da superfície ou plantações com mais de 500 indivíduos/ha, e em que as espécies de folhosas representam mais de 75% do total (em superfície ocupada ou, em número de indivíduos no caso de plantações jovens).

Esta classe inclui:

- Plantações de *Eucalyptus*.
- Plantações recentes de caducifólias.
- Castanheiros e nogueiras para produção de madeira incluídos em zonas florestais.
- Florestas esparsas de folhosas com graus de coberto de 30 a 60%.
- Florestas de folhosas perenifólias constituídas por espécies esclerófilas (sobretudo *Quercus suber*, *Quercus ilex*, *Quercus ilex* ssp. *rotundifolia*).
- Matagais arborescentes de espécies esclerófilas.
- Florestas de zambujeiros/alfarrobeiras dominadas por *Olea europaea* ssp. *sylvestris*, *Ceratonia siliqua*.
- Bosques de palmeiras (um caso único identificado na Grécia).
- Bosques de azevinho dominados por *Ilex aquifolium*.
- Bosques de tamargueiras (*Tamarix* spp.).
- Bosques de folhosas em dunas.
- Zonas de floresta de transição em que o copado apresente um grau de coberto superior a 50% se o diâmetro à altura do peito for pelo menos de 10cm.
- Parcelas sem vegetação ou com vegetação herbácea.
- Cortes rasos (aplicável a países da União Europeia).

Esta classe exclui:

- Florestas de coníferas não perenifólias dominadas por espécies de lariço (*Larix* spp.), a classificar como *florestas de coníferas* (classe 312).
- Zonas ardidas em zonas florestais, a classificar como *zonas com vegetação arbustiva e/ou herbácea* (classe 32x) ou como *zonas ardidas* (classe 334).
- Bosques constituídos por folhosas com porte inferior a 5m de altura, a classificar como *charnecas ou matos* (classe 322).
- Zonas com vegetação arbórea em que o copado das folhosas apresenta um grau de coberto inferior a 25%, a classificar como *floresta ou vegetação arbustiva de transição* (classe 324).
- Viveiros florestais localizados dentro de zonas de floresta de folhosas, a classificar como *floresta ou vegetação arbustiva de transição* (classe 324).
- Viveiros florestais com fins comerciais situados fora de zonas florestais, a classificar como *terras aráveis não irrigadas* (classe 211).
- Cortes rasos (países do programa PHARE), a classificar como *floresta ou vegetação arbustiva de transição* (classe 324).
- Parques florestais, a classificar como *zonas verdes urbanas* (classe 141).



**Figura 30: Um padrão generalizado da classe 311 – Florestas de folhosas.**

### **312. Floresta de coníferas**

Vegetação constituída principalmente por árvores, incluindo estratos arbustivos, com predomínio de espécies de coníferas.

Extensão:

As espécies de coníferas representam mais de 75% do total (em superfície ocupada ou, no caso de plantações jovens, em número de indivíduos).

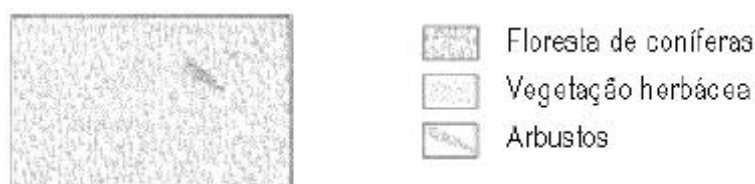
Esta classe inclui:

- Florestas de coníferas não perenifólias dominadas por espécies de lariço (*Larix* spp.)
- Plantações recentes de coníferas.
- Bosques de coníferas em dunas.
- Matagais arborescentes dominados por zimbro (*Juniperus oxycedrus/phoenica*).

- Bosques de coníferas.
- Plantações de árvores de Natal
- Parcelas sem vegetação ou com vegetação herbácea.
- Cortes rasos (aplicável a países da União Europeia).

Esta classe exclui:

- Matos de coníferas anãs tais como *Pinus mugo*, a classificar como *charnecas ou matos* (classe 322).
- Árvores esclerófilas, a classificar como *florestas de folhosas* (classe 311).
- Zonas com vegetação arbórea em que o copado das coníferas apresenta um grau de coberto inferior a 25%, a classificar como *floresta ou vegetação arbustiva de transição* (classe 324), *pastagens* (classe 231) ou *prados naturais* (classe 321).
- Viveiros florestais localizados dentro de zonas de floresta de coníferas, a classificar como *floresta ou vegetação arbustiva de transição* (classe 324).
- Cortes rasos (países do programa PHARE), a classificar como *floresta ou vegetação arbustiva de transição* (classe 324).



**Figura 31: Um padrão generalizado da classe 312 – Floresta de coníferas.**

### **313. Florestas mistas de folhosas e coníferas**

Vegetação constituída principalmente por árvores, incluindo estratos arbustivos, em que não há dominância de espécies de folhosas nem de espécies de coníferas.

Extensão:

Esta classe inclui zonas em que o copado cobre mais de 30% da superfície ou plantações com mais de 500 indivíduos/ha. A proporção de coníferas ou folhosas não excede 25% do coberto.

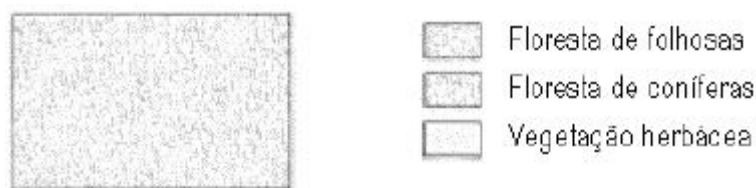
Esta classe inclui:

- Bosques mistos de folhosas e de coníferas em dunas.
- Parcelas sem vegetação ou com vegetação herbácea.
- Ocorrências esporádicas de vegetação arbustiva.

- Cortes rasos (aplicável a países da União Europeia).

Esta classe exclui:

- Plantações recentes, a classificar como *floresta ou vegetação arbustiva de transição* (classe 324).
- Zonas áridas em zonas florestais, a classificar como *zonas áridas* (classe 334).
- Bosques constituídos por folhosas e por coníferas, com porte inferior a 5m de altura, a classificar como *charnecas ou matos* (classe 322).
- Zonas com vegetação arbórea em que o copado das folhosas e coníferas apresenta um grau de coberto inferior a 25%, a classificar como *floresta ou vegetação arbustiva de transição* (classe 324), *pastagens* (classe 231) ou *prados naturais* (classe 321).
- Viveiros florestais localizados dentro de zonas de floresta de mista de folhosas e coníferas, a classificar como *floresta ou vegetação arbustiva de transição* (classe 324).
- Cortes rasos (países do programa PHARE), a classificar como *floresta ou vegetação arbustiva de transição* (classe 324).



**Figura 32: Um padrão generalizado da classe 313 – Florestas mistas de folhosas e coníferas.**

Generalização:

- Árvores isoladas, ou pequenas zonas de floresta com área inferior à AMC e que distem entre si menos de um limiar de 100 m, consistindo em folhosas numa matriz de floresta de coníferas, ou vice-versa, são representadas utilizando uma envolvente construída sobre as zonas da matriz ou preenchendo o espaço intersticial, por forma a obter uma superfície superior à AMC, classificada como *florestas mistas de folhosas e coníferas* (classe 313).

## 322. Charnecas ou matos

Vegetação com um coberto baixo e cerrado, dominada por arbustos e plantas herbáceas (urzes, silvas, giestas, tojos, laburnos, etc.).

Extensão:

Esta classe vegetação arbustiva de zonas temperadas (estádio climácico de desenvolvimento): inclui espécies florestais de pequeno porte com altura máxima de 3m no estágio climácico.

Esta classe inclui:

- Charnecas húmidas em solos húmidos ou semi-turfosos (em que a profundidade de turfa seja inferior a 30cm) com *Erica tetralix/ciliaris*, *Sphagnum* spp. e *Molinia* spp..
- Coberto vegetal com *Pinus mugo* acima do limite altitudinal de desenvolvimento de árvores na zona alpina ou em grandes depressões com inversão térmica.
- Charnecas marítimas, prostradas, sob efeito do vento, em ecótipos marítimos.
- Charnecas e formações arbustivas em zonas atlânticas, subatlânticas e subcontinentais com tojo (*Ulex* spp.), urze/queiroga (*Calluna vulgaris*, *Vaccinium* spp.), urzais (*Erica* spp.), giestas (*Genista* spp.), charnecas com arando/mirtilo (*Vaccinium myrtillus*), silvados (*Rubus* spp.).
- Charnecas (“moors”) em zonas supramediterrânicas com *Buxus* spp., *Astragalus* spp., *Bupleurum* spp., etc..
- Vegetação herbácea alta, subalpina, com fâcies arbustivo dominante (*Calluna* spp., *Vaccinium* spp., *Rubus* spp., *Juniperus nana*, etc.).
- Charnecas (“moors”) árticas com musgos, líquenes, coberto de gramíneas e pequenas formações arbustivas prostradas ou anãs (*Betula nana*, *Salix lapponum*, *Salix glauca*, *Juniperus alpina*, *Dryas* spp.).
- Matos em zonas de clima temperado com buxo (*Buxus* spp.), silvados (*Rubus* spp.), giestas (*Genista* spp. e *Cytisus* spp.), urzes (*Ulex* spp.), fetos (*Pteridium aquilinum*) e zimbros (*Juniperus communis*).
- Matos e matagais arborescentes de zonas alpinas, com moitas de pinheiro anão ou amieiro (*Pinus mugo* ssp. *mughus* e *Alnus* spp.). Moitas de salgueiro alpino acompanhadas por *Rhododendron* spp..
- Moitas e matagais arborescentes de zonas árticas com *Betula nana* e *Salix lapponum/glauca* spp.
- Terras agrícolas abandonadas em que as espécies lenhosas e semi-lenhosas ocupam mais de 25% da superfície total.

- Dunas costeiras (“dunas castanhas”) cobertas e fixas com arbustos (*Hippophae* spp., *Empetrum* spp., *Salix* spp.).
- Zonas com coberto herbáceo composto sobretudo por espécies não palatáveis e inadequadas para alimentação do gado, tais como *Molinia* spp., *Brachypodium* spp., etc..

Esta classe exclui:

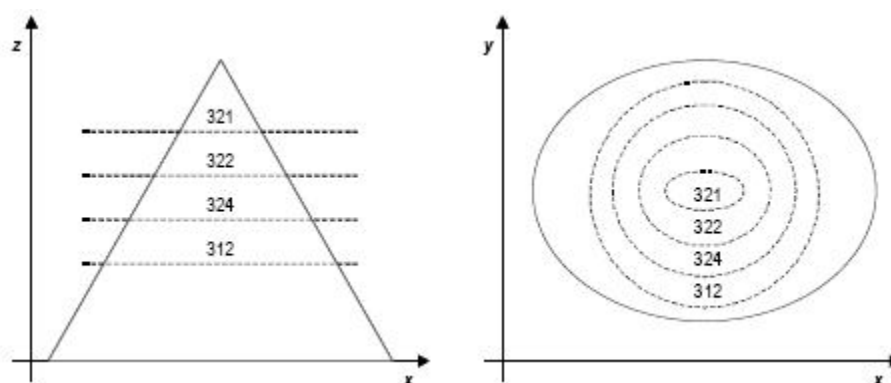
- Matagais baixos (*maquis/mattoral*), a classificar como *vegetação esclerófila* (classe 323).
- Charnecas em processo de recolonização nas quais as espécies arbóreas ocupem mais de 30% da superfície, a classificar como *floresta ou vegetação arbustiva de transição* (classe 324).



**Figura 33: Um padrão generalizado da classe 322 – Charnecas ou matos.**

Generalização:

- Em zonas de montanha, observa-se um gradiente altitudinal, com transição progressiva de zonas florestais (classe 31x), *floresta ou vegetação arbustiva de transição* (classe 324), *charnecas ou matos* (classe 322) e *prados naturais* (classe 321) – no sentido de uma maior altitude (Fig. 34).



**Figura 34: Ilustração do gradiente altitudinal.**

Caso especial da classe 322: Matos de pinheiro anão de montanha (estádio climácico de desenvolvimento)



Formações arbustivas com 2-2,5 m de altura e coberto compacto. Matos de pinheiro anão de montanha encontram-se em zonas montanhosas dos Alpes, Cárpatos, etc.. Também é frequentemente plantado para fixação de dunas (por exemplo, na Lituânia).

No caso de zonas com vegetação arbustiva constituídas por espécies esclerófilas tais como zimbro (*Juniperus oxycedrus*) e espécies de charnecas tais como *Buxus* spp. ou *Ostrya carpinifolia* sem dominância aparente (cada espécie ocupa cerca de 50% da superfície), é dada prioridade à *vegetação esclerófila* (classe 323) e toda a zona é classificada como tal.

Esta classe inclui:

- Matos de pinheiro anão de montanha (*Pinus mugo* ssp. *mughus*);
- Afloramentos rochosos.
- Ocorrências esporádicas de zonas de prados naturais.
- Ocorrências esporádicas de zonas de árvores.



**Figura 35:** Um padrão generalizado do caso especial da classe 322 – Charnecas ou matos.